

Untersuchungen über die Hitzestabilität
des kalzinogenen Wirkstoffes
in *Trisetum flavescens* (L.) P.B.
und in *Solanum malacoxylon*
(SENDTNER)

Wolfgang Ullrich

1978

Aus der Medizinischen Tierklinik
(Lehrstuhl für Innere Krankheiten der Klauentiere)
des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. G. Dirksen

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE HITZESTABILITÄT DES KALZINOGENEN
WIRKSTOFFES IN TRisetum FLAVESCENS (L.) P. B. UND
IN SOLANUM MALACoxYLON (SENDTNER)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Tiermedizin der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Wolfgang Ullrich
aus
Berlin

München 1978

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs
Tiermedizin der Universität
München

Dekan: Prof. Dr. H. Kräußlich
Referent: Prof. Dr. G. Dirksen
Korreferent: Prof. Dr. H. Erbersdobler

Tag der Promotion: 28. Juli 1978



INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	3
LITERATURÜBERSICHT	6
Die Enzootische Kalzinose der Rinder im bayerischen und österreichischen Alpenvorland	6
Die südamerikanische Rinderkalzinose: Enteque seco bzw. Espichamento	15
Weitere außereuropäische Kalzinosen	26
Die Naalehu disease auf Hawaii	26
Die Manchester wasting disease auf Jamaika	28
Cestrum-diurnum-Vergiftung bei Pferd und Rind in Florida	29
Weitere Berichte über enzootisch auftretende Kalzinosen	30
Eigenschaften und Wirkungen von Vitamin D	32
Hypervitaminose D	40
EIGENE UNTERSUCHUNGEN	43
Material und Methodik	43
Versuchstiere	43
Herkunft und Behandlung des Pflanzenmaterials	44
Blutentnahme	45
Bestimmungsmethoden für die untersuchten Blutparameter	45
Versuchsanordnung	47
Ergebnisse	
Untersuchungen über die Hitzestabilität des kalzinogenen Wirkstoffes in Solanum malacoxylon	48
Feststellung der normalen Tagesschwankungen des Ca- und des P-Spiegels der Kaninchen	48

Bestimmung des Verlaufs des Plasma-P-Spiegels nach oraler Applikation einer Suspension von nicht-erhitztem SM zur Festlegung des optimalen Blutentnahme-Zeitpunktes

Erprobung einer anderen Darreichungsform (SM-Pulver in Gelatinekapseln) sowie verschiedener Dosierungen

Bestimmung der Blutspiegel von Ca und P über 14 Tage nach Verabreichung von nicht-erhitztem Solanum-Pulver

Orientierungsversuche zum Einfluß verschiedener Temperaturen auf die kalzinogene Aktivität von SM (bei 2 Kaninchen je Temperaturstufe)

Versuche zur Bestätigung der Ergebnisse der Orientierungsversuche bezüglich des Einflusses verschiedener Temperaturen auf die kalzinogene Aktivität von SM (bei 6 Kaninchen je Temperaturstufe)

Untersuchungen über die Hitzestabilität des kalzinogenen Wirkstoffes in Trisetum flavescens

Bestimmung des Verlaufs der Plasma-Spiegel von Ca und P bei Alleinfütterung von Kontrollheuen an Kaninchen

Bestimmung der kalzinogenen Aktivität des zur Thermolabilitätsprüfung vorgesehenen Goldhaferheus

Orientierungsversuche zur Ermittlung des Einflusses der Temperatur auf die kalzinogene Aktivität des getrockneten Goldhafers

Versuche zur Prüfung der Hitzestabilität des kalzinogenen Wirkstoffes des getrockneten Goldhafers im Temperaturbereich zwischen 160°C und 180°C

Zusammenfassung der Ergebnisse der Fütterungsversuche mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu

DISKUSSION

ZUSAMMENFASSUNG

SUMMARY

LITERATURVERZEICHNIS

EINLEITUNG

Die Enzootische Kalzinose ist eine wirtschaftlich bedeutende, chronische Erkrankung des Rindes in bestimmten Regionen des bayerischen und österreichischen Alpenvorlandes. Sie wird seit Anfang der Sechziger-Jahre beobachtet und ist unter ihrem Namen zum ersten Mal 1970 von DIRKSEN u. M. (34) beschrieben worden. Das Krankheitsbild ließ sich zunächst nur bei erwachsenen Rindern feststellen, wobei eine besondere Krankheitshäufigkeit im Herbst auffiel. Dieser offensichtliche Zusammenhang mit vorhergehendem bzw. noch bestehendem Weidegang veranlaßte österreichische Autoren zunächst, von "Weidekrankheit" zu sprechen (78).

Das Wesen der Erkrankung besteht in einer systemischen Kalzifizierung der Weichgewebe, insbesondere des Kreislaufapparates (52) sowie einer systemisierten Osteomyelose (23). Diese Veränderungen bedingen auch das klinische Bild, geprägt von Abmagerung, Bewegungsstörungen und Leistungsminderung bis hin zur Unwirtschaftlichkeit.

Systematisch durchgeführte Untersuchungen erbrachten den Beweis, daß der Verzehr von Goldhafer, *Trisetum flavescens*, die Ursache der Enzootischen Kalzinose des Rindes ist (31; 32; 33). Nach der Identifizierung des kausalen Agens wandte sich die Kalzinoseforschung speziellen Teilgebieten zu. So gelang ZUCKER u. M. (178) bei der Suche nach dem verantwortlichen Wirkstoff die Extraktion einer biologisch hochaktiven, Vitamin-D-ähnlichen Substanz aus lyophilisiertem Goldhafer, die nicht identisch ist mit dem zwischenzeitlich identifizierten aktiven Prinzip der Pflanze *Solanum malacoxylon*, die als Ursache der südamerikanischen Rinderkalzinose nachgewiesen worden ist.

Diese in Argentinien als "Enteque seco" (17), in Brasilien als "Espichamento" (38) bezeichnete Krankheit kann wirtschaftlich derart verheerende Folgen haben, daß die Ren-

tabilität der Rinderhaltung nicht mehr gewährleistet ist. In umfangreichen Forschungen wurde 1,25-Dihydroxycholecalciferol als wirksames Prinzip dieser Giftpflanze entdeckt (162).

Weitere Berichte über Kalzinosen beim Rind stammen aus Hawaii ("Naalehu disease") (61) und aus Jamaica ("Manchester wasting disease") (3). In beiden Fällen ist die Ätiologie noch ungeklärt; eine Vergiftung mit der Solanazee *Cestrum diurnum*, von der bekannt ist, daß sie die in Florida vorkommende Kalzinose bei Rindern und Pferden verursacht (80; 81), ist nicht auszuschließen (137). Auch aus Papua/Neu Guinea liegt eine Veröffentlichung über eine Rinderkalzinose vor (19). Kalzinosen beim Schaf wurden in Südafrika (149) und Indien (48), bei der Ziege in Israel (108) beschrieben, wobei Angaben über die Ursachen noch nicht vorliegen.

Alle genannten Kalzinosen ähneln in ihrem pathologisch-anatomischen Bild der Vitamin-D-Intoxikation.

Bei der Erforschung der hiesigen Kalzinose stehen derzeit Detailfragen der praktischen Krankheitsbekämpfung im Vordergrund. Dies sind vor allem landwirtschaftliche Maßnahmen, die entweder die Pflanzensoziologie der betroffenen Weiden im Sinne einer Repression des Goldhaferanteils beeinflussen sollen, oder die geeignet sind, die Toxizität des Goldhafers zu mindern. So ist es denkbar, daß der Düngung eine gewisse Bedeutung zukommen könnte (78; 138; 124). Inwieweit Düngemaßnahmen das Auftreten von Kalzinose verhindern oder zumindest verringern können, bedarf jedoch noch der Aufklärung. Die Feststellung, daß in getrocknetem Goldhafer weniger kalzinogene Substanz enthalten ist als in der frischen Pflanze gleichen Vegetationsstadiums (35), und die Tatsache, daß sich mit steigendem Rohfasergehalt ebenfalls die Krankheitsgefahr zu vermindern scheint (175), konnten dem Landwirt als erste Hinweise zur Kalzinosebekämpfung dienen. Einsilierung des Goldhafers hat sich da-

gegen nicht als geeignetes Mittel zur Kalzinose-Prophylaxe erwiesen (60).

Eine weitere, großtechnisch durchführbare Möglichkeit zur Grünfütterkonservierung ist die Heißlufttrocknung. Hierbei wird das gehäckselte Pflanzenmaterial durch eine ca. fünfzehn Meter lange Trommel befördert. Die Eingangstemperatur, der das Gras bei seinem Eintritt in die Trommel ausgesetzt ist, beträgt je nach dem Feuchtigkeitsgehalt des Pflanzengutes 800°C bis 1000°C . Zum Trommelende hin ist sie bis auf ca. 100°C abgefallen. Das Pflanzenmaterial erreicht diese hohen Temperaturen jedoch nicht. Die Maximaltemperatur liegt bei etwa 100°C . Das Häckselgut wird getrocknet und zu sogenannten "Cobs" geformt. Der gesamte Prozeß der Heißlufttrocknung dauert ca. zehn Minuten.

Das Ziel dieser Arbeit ist die Prüfung der Frage, ob überhaupt und gegebenenfalls bei welcher Temperatur die aktive Substanz des Goldhafers dem Einfluß der Hitze unterliegt. Zu diesem Zweck wurde in der vorliegenden Arbeit Goldhaferheu verschiedenen Temperaturen ausgesetzt (ohne indes hierbei die Vorgänge bei der Heißlufttrocknung von Grünfütter imitieren zu wollen bzw. zu können) und seine kalzinogene Aktivität am Kaninchen als Versuchstier getestet. Da mit *Solanum malacoxylon* eine weitere kalzinogene Pflanze zur Verfügung stand, wurde auch sie dem Einfluß der Hitze ausgesetzt und ihre kalzinogene Aktivität anschließend am Kaninchen geprüft, um das Verhalten der wirksamen Prinzipien beider Substanzen vergleichen und eventuell auftretende Ähnlichkeiten feststellen zu können.

LITERATURÜBERSICHT

Die Enzootische Kalzinose der Rinder im bayerischen und österreichischen Alpenvorland

Über eine chronische Erkrankung bei Kühen, die mit starker Abmagerung, Freßunlust, Leistungsabfall und hochgradigen Bewegungsstörungen einhergeht und vorwiegend während der Weidezeit auftritt, berichten erstmalig ONDERSCHEKA u. M. 1967 aus Niederösterreich (116). Eine chemische Analyse des Mineralstoffgehaltes des Grünfutters in einem Versuchsbetrieb ergab, daß der Mg-Gehalt unter dem DLG-Mittelwert lag. In einem daraufhin durchgeführten Fütterungsversuch zeigte Mg-Supplementierung eine günstige Wirkung. Tatsächlich normalisierten sich in einem anschließenden Therapieversuch, bei dem zu einer handelsüblichen Mineralstoffmischung noch MgO zugefüttert wurde, binnen zwei Wochen die Blutwerte von Ca, P und Mg, die zuvor im Falle des Ca erhöht, bei P und Mg erniedrigt waren. Damit verbunden war auch eine klinische Besserung der Tiere. Diese Ergebnisse veranlaßten die Untersucher, die Krankheit als "chronischen Magnesiummangel" aufzufassen. Daß die Krankheit bevorzugt nach Wachstumsschüben auftrat, schien diese Hypothese zu stützen, da junge, eiweißreiche Pflanzen wenig Mg enthielten.

Wie aus den Angaben über den Pflanzenbestand des Versuchsbetriebes jedoch hervorgeht, betrug der Grasanteil des Pflanzenbewuchses 50%, wobei der Goldhafer mit 20% vertreten war. Nachdem heute bekannt ist, daß die Aufnahme von Goldhafer, zumal in jungem Vegetationsstadium, zur Kalzinose führt (175), ist die Frage zu stellen, ob sie nicht auch im dargelegten Falle bestanden hatte.

1969 berichteten LIBISELLER und GUNHOLD über "Calcinosen bei Kühen" (92), bei denen Verkalkungen in der Lunge, den Hauptmittelfußarterien, der Nierenrinde und dem Wadenmuskel auftraten, und in deren Verlauf schwer erkrankte Tie-

re eine Erhöhung des Blut-Ca-Spiegels bis 13,8 mg/100 ml und des Blut-P-Spiegels bis 8,2 mg/100 ml aufwiesen. Ätiologische Angaben liegen nicht vor.

Ein Bericht über eine "Weidekrankheit" bei Rindern in der Steiermark und Tirol von KÖHLER und LIBISELLER stammt aus dem Jahr 1970 (78). Das Krankheitsbild wird hier im Zusammenhang mit Düngung und Fütterung gesehen. Befallen waren besonders ältere Tiere in Mähweidebetrieben mit intensiver Düngung: Je stärker die Phosphatdüngung war, desto stärker ausgeprägt waren auch die Krankheitsanzeichen. Mineralstoffwechselstörungen im Tier, ausgelöst durch Mineralstoffimbalancen im System Düngung - Boden, die sich auf Futterinhaltsstoffe übertragen, werden für die Ursache gehalten. Eine MgO-Beifütterung, wie von ONDERSCHEKA vorgeschlagen (116), konnte die Weidekrankheit nicht verhindern. In zwei Vergleichsbetrieben - bei einem kam Weidekrankheit vor, bei dem anderen nicht - ergaben pflanzensoziologische Untersuchungen einen Goldhaferanteil an der Weidefläche von jeweils 15%.

DIRKSEN u. M. (34), HÄNICHEN u. M. (52) sowie DÄMMRICH u. M. (23) beschrieben - ebenfalls 1970 - Klinik und Pathologie der "Enzootischen Kalzinose" im bayerischen Voralpengebiet. Da es keinerlei Hinweis auf die Ätiologie dieser Krankheit gab, wurde mit der systematischen Erfassung der Lebensumstände der betroffenen Tiere begonnen. Hierbei ergaben sich jedoch zunächst keine Besonderheiten, lediglich bei der Düngung wurden die Phosphatgaben als überdurchschnittlich bezeichnet. Ferner wurde registriert, daß sich die Krankheitsfälle gegen das Ende der Weideperiode hin häuften. Das legte den Schluß nahe, daß die Ursache der Erkrankung in der Beschaffenheit der Weiden zu suchen sei. Erhärtet wurde diese Ansicht durch die Ergebnisse eines Austauschversuches. Man hatte beobachtet, daß gegen Ende der Weidezeit bei kalzinosekranken Kühen der Serum-Phosphor-Spiegel auf außergewöhnlich hohe Werte anstieg, während die Ca-Werte im Normalbereich lagen. Bei einer schwer

erkrankten Kuh bewirkte der Wechsel von einem Kalzinosebestand in einen kalzinosefreien Bestand nach einigen Monaten eine Normalisierung des Blut-Phosphor-Spiegels. Umgekehrt stieg bei gesunden Kühen, die in dem Kalzinosebestand aufgestellt worden waren, der P-Wert innerhalb des gleichen Zeitraums stark an. Die Tendenz der jeweiligen Ca-Spiegel war ähnlich, jedoch graduell viel geringer und in keinem Fall über den physiologischen Wert hinausgehend. Sofern das Verhalten des Blut-P-Spiegels als Kriterium für das Vorhandensein von kalzinogenem Agens gelten konnte, mußte man folgern, daß dieses in der Nahrung zu suchen sei. Behandlungsversuche mit parenteralen Gaben von Magnesiumglukonat und oralen Mg-Gaben blieben ohne Erfolg.

Pathologisch-anatomische Veränderungen äußerten sich in makroskopisch wahrnehmbaren Verkalkungen des Endokards, der Arterien, der Lungen, der Nieren und der Beugesehnen. Karpal- und Tarsalgelenke zeigten Arthrosen, die Knochen waren hart und dicht (34). Histologisch fielen subintimale Mediaverkalkungen großer Arterien sowie Verkalkungen an Endokard, Lungeninterstitium, Beugesehnen u. a. auf (52). Die Knochenveränderungen wurden als systemisierte Osteomyelosklerose gedeutet (23).

Zur Klärung der Ursache wurde im darauffolgenden Jahr mit Fütterungsversuchen begonnen. Drei Schafe wurden zehn Wochen lang selektiv mit jeweils einer aus den inkriminierten Weiden ausgelesenen Pflanzengruppe gefüttert. Die beiden Schafe, die Klee bzw. Kräuter als alleinige Nahrung erhalten hatten, waren bei der Schlachtung frei von den typischen pathologisch-anatomischen Veränderungen. Das dritte Schaf, dessen Futter aus Gräsern der Kalzinoseweiden bestanden hatte, zeigte hingegen ausgeprägte Verkalkungen der Aorta abdominalis und der Digitalarterien. 83 Schafe, die am Münchner Schlachthof zur Schlachtung kamen und die auf makroskopisch erkennbare Gefäßveränderungen untersucht worden waren, zeigten keine derartigen Läsionen (30). Die

Wiederholung der Versuche im darauffolgenden Jahr bestätigten dieses Ergebnis.

Nachdem nun ein Hinweis gewonnen war, daß der Kalzinose verursachende Faktor in den Gräsern zu suchen war, wurden an drei Kaninchengruppen selektiv ein Gräsergemisch der betroffenen Weiden sowie Rationen der darin dominierenden Arten Knautgras und Goldhafer verfüttert. Bei der Sektion zeigten alle Tiere der Goldhafergruppe sowie eines von vier Tieren, die das Gräsergemisch erhalten hatten, makroskopisch und mikroskopisch sichtbare Gefäßverkalkungen (31).

Daß tatsächlich der Goldhafer verantwortlich ist für die kalzinotischen Verkalkungen beim Kaninchen, zeigten die Versuche im folgenden Jahr, da sowohl aus Kalzinoseweiden ausgelesener als auch von Monokulturen geernteter Goldhafer imstande war, Verkalkungen im Kreislaufsystem sowie in verschiedenen Organen hervorzurufen (32).

Die Pathogenität des Goldhafers auch für den Wiederkäuer bewiesen Untersuchungen des Jahres 1973. Goldhafer verursachte sowohl im Raum Hessen als auch im voralpinen Grünlandgebiet makroskopisch wahrnehmbare Gefäßverkalkungen bei Schafen. Die betroffenen Tiere hatten außerdem eine schlechtere Gewichtsentwicklung als die goldhaferfrei ernährten Kontrolltiere. Im Gegensatz zu den in Bayern gehaltenen Versuchsschafen zeigten die hessischen auch deutliche klinische Erscheinungen wie Bewegungsunlust und steifen Gang. Die kalzinogene Wirkung des Goldhafers war somit nicht standortgebunden (33).

Untersuchungen von SPIESS ergaben, daß die Kalzinose neben das Krankheitsbild bestimmenden Störungen am Bewegungsapparat deutliche, negative Auswirkungen auf die Fertilität hat. Besonders häufig waren ovarielle Dysfunktionen. Auch Aborte schienen gehäuft aufzutreten, während hypokalzämische Gebärparesen in Kalzinosebetrieben sehr selten waren (140).

KÖHLER u. M. vermuteten, daß auch Goldhaferheu kalzinogen wirkt. Weiter stellten sie fest, daß einmal ausgeprägte pathologisch-anatomische Veränderungen nicht rückbildungsfähig sind im Gegensatz zum klinischen Bild, das sich bessern kann. In Stoffwechseluntersuchungen bei Kalzinosekühen fanden sie, daß ihre Tiere pro Tag 26,6 g P retinierten und als Oktokalziumphosphat in verkalkendem Gewebe deponierten. Dieser extrem hohe Wert werde zwar durch hohe P-Zufuhr ermöglicht, zeige jedoch an, in welchem hohem Ausmaß die Steuerung des P-Stoffwechsels bei den erkrankten Tieren verloren gegangen sei. Pathogenetische Bedeutung messen die Verfasser einer wiederholt beobachteten Inaktivitätsatrophie der Zellen der Epithelkörperchen zu. Sie könne aus ungenügender Parathormonproduktion resultieren, die ihrerseits die gleichfalls beobachtete vermehrte Knochenapposition erklären könne. Eine Minderproduktion von PTH komme dann zustande, wenn Goldhafer eine dem 1,25-DHCC ähnliche Substanz enthalte. In diesem Falle werde die Nebenschilddrüse, die auf einen niedrigen 1,25-DHCC-Blutspiegel mit PTH-Ausschüttung antworte, umgangen. Außerdem sei die Anwesenheit von 1,25-DHCC eine weitere Erklärung für die vermehrte Knochenapposition (77).

1974 gelang es auch LIBISELLER u. M., bei Schafen und Kaninchen durch Verfütterung von frischem Goldhafer in Nordtirol, Kalzinose zu erzeugen. Bei den extrem abgemagerten Kaninchen zeigten sich bereits nach sechzehn Wochen kardiovaskuläre Veränderungen. Bei Kaninchen, die im pannonischen Klimagebiet gehalten wurden, ließen sich durch Goldhaferfütterung innerhalb von acht Wochen dagegen weder Abmagerung noch Gefäßverkalkungen hervorrufen. Dieser Goldhafer war jedoch anderen Düngemaßnahmen ausgesetzt als der der Nordtiroler Versuche. Dennoch ließ eine kräftige Ausbildung der Spongiosa auf eine Beeinflussung des Ca- und P-Stoffwechsels schließen. Diese Ergebnisse erlauben keinen Schluß auf einen möglicherweise vorhandenen Einfluß unterschiedlicher Standortbedingungen auf die Toxizität des Goldhafers,

da die Versuchsbedingungen von denen des Vergleichsbetriebes zu stark abwichen. Das Meerschweinchen erwies sich unter den dargestellten Verhältnissen nicht als geeignetes Versuchstier zur biologischen Testung kalzinogener Pflanzen (90).

Zur Klärung der Frage, ob die krankmachende Eigenschaft des Goldhafers durch die Wirkstoffkonzentration in der Pflanze oder durch ihren Mengenanteil im Futter bestimmt wird, führten SIMON u. M. 1975 Fütterungsversuche mit Schafen durch. Dabei war das relative Lebendgewicht der Tiere umso geringer, je höher der Goldhaferanteil am Futter war. Diese Beobachtung sprach dafür, daß ein Zusammenhang zwischen der Goldhafermenge im Futter und dem Gesundheitszustand der Tiere besteht. In weiteren Untersuchungen wurde der Effekt erhöhter Stickstoff-Düngung auf das Auftreten von Kalzinose untersucht. Dabei zeigte sich, daß reine Goldhaferfütterung im Vergleich zu goldhaferfreiem Wiesen-gras sowohl bei hoher als auch bei niedriger N-Düngung einen sehr ungünstigen Einfluß auf die Gewichtsentwicklung der Tiere hatte und zu klinischen Anzeichen von Kalzinose führte. Bei hoher N-Düngung war der Gewichtsverlust etwas höher (138).

Da das Krankheitsbild der Kalzinose große Ähnlichkeit mit dem der Hypervitaminose D hat und Vitamin D im Tier unter dem Einfluß der UV-Strahlen des Sonnenlichts gebildet wird, gingen DIRKSEN u. M. der Frage nach, ob die kalzinogene Wirkung des Goldhafers von der Sonnenbestrahlung des Tieres abhängig sei oder durch sie verstärkt werde. Nachdem sowohl bei im Dunklen als auch bei unter freiem Himmel gehaltenen Schafen nach Verfütterung von frischem Goldhafer hochgradige Verkalkungen aufgetreten waren, konnte diese Frage verneint werden. Eine Abschwächung der kalzinogenen Wirkung des Goldhafers beim Schaf wurde gesehen, wenn das Gras getrocknet verfüttert wurde. Nichtsdestoweniger enthielt auch Goldhaferheu das kalzinogene Prinzip (35).

WOLF fand bei Untersuchungen am Kaninchen, daß auch die kalzinogene Wirkung von Goldhaferheu unabhängig von UV- oder Sonnenbestrahlung ist (174).

Nach Versuchen an Schafen und Kaninchen im pannonischen Klimagebiet konnten auch LIBISELLER u. M. bestätigen, daß grüner Goldhafer unter verschiedenen Standort- und Düngbedingungen kalzinogen wirkt. Die pathologischen Veränderungen glichen denen, die bei Versuchen in Nordtirol, einem endemischen Kalzinosegebiet, gesehen wurden. Bei den Schafen wurden zusätzlich die Blutspiegel von Ca und P untersucht. Hierbei stellte sich heraus, daß nach sechs Wochen der P-Wert anstieg, während sich Ca vollkommen unregelmäßig verhielt. Weiterhin glaubte man, Hinweise gefunden zu haben, daß sich die Toxizität des Goldhafers im Verlaufe der Vegetationsperiode ändert (1976/ 91).

Einen direkten Einfluß der Düngung auf die kalzinogene Wirkung des Goldhafers konnten PLANK u. M. nicht feststellen. Bei ihren Experimenten zeigten Schafe, die auf einer gedüngten Parzelle einer Kalzinoseweide gehalten wurden, graduell ähnliche Verkalkungen wie Schafe einer ungedüngten Parzelle. Ein möglicher indirekter Einfluß durch Verschiebung des Pflanzenbewuchses oder Beeinflussung der Wachstumsintensität des Goldhafers ist nach Meinung der Autoren nicht auszuschließen (124).

Nach den Versuchen von WOLF u. M. bewirkt sowohl frischer als auch in der Sonne getrockneter, lyophilisierter oder künstlich im Umlaufverfahren getrockneter Goldhafer einen Anstieg des Phosphor-Gehaltes und einen Abfall der alkalischen Phosphatase im Blutplasma von Kaninchen. Der Blut-Ca-Spiegel wurde in geringerem Maße und nicht regelmäßig beeinflusst. Damit erwies sich die Bestimmung des Gehaltes an anorganischem Phosphat im Blutplasma des Kaninchens als geeignet zur Feststellung der kalzinogenen Wirkung von verfüttertem Pflanzenmaterial. Die Blutspiegel von P und Ca verhielten sich somit ähnlich wie nach Verabreichung von Solanum malacoxylon (100; 102) und Vitamin D (71).

Obige Versuche erbrachten ferner, daß junger, fast nur aus Blättern bestehender Goldhafer eine höhere Aktivität aufwies als im Rispschieben oder in der Blüte geernteter mit teils verholzten Stengeln (175).

ZUCKER u. M. konnten 1977 an einem biologisch hochaktiven Extrakt von *Trisetum flavescens* nachweisen, daß dieser nicht identisch ist mit 1,25-DHCC, dem aktiven Prinzip von *Solanum malacoxylon*, und offenbar auch von Vitamin D₃ und 25-OH-CC verschieden ist (178). Anhand eines biologischen Tests an der Ratte, den die Verfasser zum Studium der aktiven Substanz in *Trisetum flavescens* entwickelt hatten, konnten sie einen Wirkungsvergleich der aktiven Substanzen von Vitamin D₃, *Solanum malacoxylon*, Goldhafer und des gereinigten Goldhaferextraktes vornehmen. 400 IE Vitamin D₃/kg Futter bewirkten dabei eine Erhöhung des P-Spiegels der Ratten um 46%, 5 g *Solanum malacoxylon*/kg Futter um 51%, 90 g Goldhafer/kg Futter um 45% und der gereinigte Extrakt von 90 g Goldhafer/kg Futter um 34%.

Unterschiedliche Ergebnisse über den Wirkungsmechanismus des aktiven Prinzips von *Trisetum flavescens* erlangten Untersuchungen von PETERLIK u. M. (120) und WASSERMAN u. M. (163). Während erstere fanden, daß bei rachitischen Küken die stimulierende Wirkung des Goldhafers auf die Bildung von Vitamin-D-abhängigem kalziumbindenden Protein (CaBP) in der Dünndarmmukosa sowie die Ca- und P-Resorption im Darm durch Strontiumbeimengungen in das Futter nicht gehemmt werden könne, was bewiese, daß das aktive Prinzip des Goldhafers 1,25-DHCC-artige Struktur habe, konnte dies von der Gruppe um WASSERMAN nicht bestätigt werden. Hier trat bei zweien von drei verwandten *Trisetum*-chargen bei rachitischen Küken nach Strontiumgaben eine vollständige Hemmung der vorher beobachteten biologischen Antwort auf Goldhaferfütterung ein. Bei einer Charge wurde eine geringe biologische Antwort gefunden. Dies zeige auf, daß der größte Teil der Vitamin-

D-ähnlichen Aktivität dieser Chargen offensichtlich nicht 1,25-DHCC gewesen sei. Daraus könne jedoch nicht geschlossen werden, daß im Goldhafer keine 1,25-DHCC-ähnliche Aktivität vorliege. Vielmehr könne diese Aktivität unverfügbar sein, während Verarbeitung und Lagerung des Materials gelitten oder in niedrigen Konzentrationen vorgelegen haben (120).

Bei beiden Autoren finden sich auch Angaben über die Wirkungsgröße von *Trisetum flavescens*. PETERLIK stellte fest, daß in bezug auf die CaBP-Synthese beim Eintagsküken *Solanum malacoxylon* die 25-fache und *Cestrum diurnum* die 4-fache Wirkung von *Trisetum flavescens* ausübe. WASSERMAN vermutet in einem Kilogramm getrockneter Goldhaferblätter eine Aktivität, die 600 - 800 IE Vitamin D₃ äquivalent sei. Seinen Schätzungen lag ein Vergleich des Knochenaschegehalts der Tibien von rachitischen und mit Vitamin D bzw. *Trisetum* behandelten Eintagsküken zugrunde.

FEUSSNER prüfte die Frage, ob die bei der Enzootischen Kalzinose des Rindes histologisch und mikroradiographisch festgestellte Osteosklerose auch röntgenologisch faßbar sei. Er kommt zu dem Schluß, daß die Röntgenuntersuchung zur Bestandsdiagnose der Kalzinose geeignet sei, während sie am Einzeltier lediglich Hinweise auf osteosklerotische Veränderungen geben könne. Der Vorteil, den die röntgenologische Darstellung der Metakarpalknochen kalzinoseverdächtiger Tiere für die Diagnose bringe, sei die Tatsache, daß die osteosklerotischen Veränderungen keinen jahreszeitlichen Schwankungen wie etwa der P-Gehalt des Blutes unterlegen seien (43).

HEINRITZI u. M. untersuchten, ob der Silierungsprozeß die kalzinogene Aktivität des Goldhafers beeinflusse. Sie kamen zu dem Ergebnis, daß dies unter den gegebenen Bedingungen nicht der Fall gewesen sei (60).

Die südamerikanische Rinderkalzinose: Enteque seco bzw.
Espichamento

COLLIER stellte 1927 zum ersten Mal eine Beziehung zwischen einer als "Enteque ossificans" bezeichneten und durch starke Abmagerung sowie Verkalkung oder Verknöcherung der Lungen und größeren Gefäße charakterisierte Krankheit des Rindes mit vorausgegangener Aufnahme von *Solanum glaucum*⁺) her. Die Krankheit war nur in den Gegenden Argentiniens bekannt, wo auch SM vorkam (18). Über eine sehr ähnliche Erkrankung berichteten PARDI u. M. 1947 aus Brasilien (117). Neben dem klinischen und pathologischen Bild der Enteque seco finden sich bei ECKELL u. M. (1960) Angaben über den Ca- und P-Blutspiegel erkrankter Rinder, wobei diese Werte im physiologischen Bereich gefunden wurden (40). CARRILLO u. M. (17) und WORKER u. M. (177) gelang 1967 der experimentelle Nachweis, daß der Verzehr von SM die Ursache der Enteque seco ist. Rinder, die auf Weiden gehalten wurden, auf denen auch SM wuchs, zeigten als erste Anzeichen einer Erkrankung Gewichtsverlust und steifen Gang. Verblieben die Tiere auf diesen Weiden, verfielen sie weiter und starben schließlich. Das pathologische Bild war geprägt von einer generellen Verkalkung der Weichgewebe, am ausgeprägtesten im kardiovaskulären System. In sehr fortgeschrittenen Fällen hatten sich auch Kalkablagerungen in Lunge, Zwerchfell, Nieren, Sehnen und Bändern sowie Erosionen und Ulzera an Gelenkknorpeln gebildet. Außerdem war eine Erhöhung der Ca- und P-Blutspiegel um 25% bis 50% beobachtet worden, die sich zwei bis drei Tage nach Entfernung der Tiere von den Weiden normalisiert hatten. In Experimenten an Rindern bewirkten ein Kilogramm einer Futterprobe einer betroffenen Weide intraruminal oder eine orale Dosis von 5 g eines wäßrigen Extraktes getrockneten SM-Materials eine Erhöhung der Ca- und P-Blutspiegel für vier Tage. Bei Schafen ließ sich ein

⁺) "*Solanum malacoxylon*", "*Solanum glaucophyllum*" und "*Solanum glaucum*" sind Synonymata. Im folgenden wird nur von "*Solanum malacoxylon*", abgekürzt "SM", gesprochen.

ähnliches Ergebnis mit einer Dosis von 0,5 g des gleichen Materials erreichen, wobei das Verhältnis von SM-Blättern zu SM-Stengeln gleich 1:2 betrug. Weitere Untersuchungen zeigten, daß beinahe alles Gift in den Blättern enthalten ist. Bei Veraschung des Materials erlosch die Wirkung. Dies war ein Hinweis darauf, daß das aktive Prinzip organischen Materials sein müsse.

GAGGINO u. M. prüften die Fähigkeit von SM, nach Mischung oder Inkubation in Pansensaft arteriosklerotische Veränderungen bei der Ratte zu erzeugen. In vorhergehenden Versuchen hatten sie mit einem wäßrigen Extrakt getrockneter SM-Blätter, der oral verabfolgt worden war, keine biologische Antwort bei der Ratte erhalten. Es zeigte sich, daß über 60% der Ratten, die das in Pansensaft inkubierte SM bekommen hatten, arteriosklerotische Veränderungen ähnlich denen von Rind und Schaf nach Vergiftung mit SM aufwiesen. Alle übrigen Tiere hatten keine Veränderungen in den Arterien (46). Inzwischen wurde von GIMENO (pers. Mitt.) beobachtet, daß auch Ratten, die nicht in Pansensaft inkubiertes SM erhalten hatten, Verkalkungen entwickelten.

ROSSI u. M. prüften zum ersten Mal beim Kaninchen als Versuchstier die kalzinogene Wirkung von SM. Ihre Kaninchen erhielten bis zu einer Dauer von neun Tagen einen wäßrigen Extrakt aus 250 mg getrockneten SM-Blättern je Tier. 24 Stunden nach der dritten Dosis zeigten sich die ersten Verkalkungen an Myokard und Aorta. Im weiteren Verlauf der Untersuchung traten Kalkablagerungen auch in Niere, Lungen, Ovarien, Speicheldrüsen, dem Magenfundus, der Milz und den Lymphknoten auf. Das Kaninchen erwies sich also als empfindlich für das aktive Prinzip von SM (130; 131).

MAUTALEN u. M. untersuchten bei gleicher Versuchsanordnung den Ca- und P-Stoffwechsel des Kaninchens. 24 Stunden nach der ersten SM-Dosis war der Blut-Ca-Spiegel von 14,6 auf 15,7 mg/100 ml angestiegen; anschließend bestanden keine signifikanten Unterschiede zum Ausgangsspiegel mehr. Der

Blut-P-Spiegel steigerte sich binnen 24 Stunden von 5,3 auf 8,4 mg/100 ml und blieb auch die folgenden Tage signifikant erhöht. Ein erster Anstieg des Serum-P-Spiegels um 1 mg/100 ml war bereits vier Stunden nach erfolgter SM-Applikation festzustellen. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase war nach 24 Stunden von 7,7 auf 3,7 mU/ml gefallen und hielt dieses Niveau die folgenden Tage. Die massiven Kalkablagerungen in Organen und Geweben werden als Folgeerscheinung der Blutveränderungen gedeutet, die Aktivitätsverminderung der alkalischen Phosphatase als Hemmung der Knochenbildung (102).

CAMBEROS u. M. kamen bei der Untersuchung der Mineralstoffbilanz von Schafen zu dem Ergebnis, daß ein zweimal pro Woche applizierter wäßriger Extrakt aus 5 g getrockneten SM-Blättern nach 118 Tagen zu einer Verstärkung der Ca- und P-Absorption bei geringfügig erhöhter Ausscheidung im Harn geführt habe. Dadurch sei es zu einer wesentlich erhöhten Retentionsrate dieser Elemente gekommen. Kupfer habe sich dagegen vollkommen anders verhalten: Die Absorption war herabgesetzt, die Exkretion gleich oder verstärkt, was zu einer ausgeprägten negativen Cu-Bilanz geführt habe. Besonders deutlich sei dies bei stark erkrankten und bei kachektischen Tieren der Fall gewesen (12).

Eine weitere Arbeit der Gruppe um CAMBEROS behandelt die Wirkung von SM auf das Meerschweinchen. In verschiedenen Versuchen verfütterten sie wäßrige Extrakte aus 100-500 mg getrockneten SM-Blättern oder 400-1000 mg luftgetrocknete SM-Blätter über unterschiedlich lange Zeit. Hierbei traten regelmäßig Hyperkalzämie und gelegentlich Hyperphosphatämie auf. Im Gegensatz zu Rind und Schaf war beim Meerschweinchen das erste Organ, an dem Verkalkungen auftraten, die Niere. Anschließend verkalkten auch Aorta, Herz, Milz und Leber. Zwischen der Wirkung der getrockneten Blätter und derjenigen der wäßrigen Extrakte von getrockneten Blättern bestanden nur geringe Unterschiede. Auch die Unterschiede, die nach Applikation eines wäßrigen Extraktes aus 100 mg

SM-Blättern im Vergleich zur Applikation von 200 mg desselben Materials bezüglich Körpergewichtsentwicklung, Futterverwertung und Blutparametern (Ca, P) gesehen werden konnten, waren nicht signifikant. Die individuelle Reaktion der Meerschweinchen war jedoch einer beachtlichen Variation unterlegen (13).

Bei Experimenten, die ROSS u. M. an Küken ausführten, waren nach 12 Wochen alle Tiere tot, deren Grundfutter einen Zusatz an getrockneten SM-Blättern von über 1% aufwies. Zusätze ab 0,5% bewirkten im Vergleich zu den Kontrollen Gewichtsdepression und nach drei Wochen eine Erhöhung des Serum-Ca-Spiegels (129).

Daß sich durch experimentelle Vergiftung mit SM bei Rindern neben einer Erhöhung der Blutspiegel von Ca und P auch das pathologische Bild der Enteeque seco reproduzieren läßt, zeigen Versuche von CARRILLO u. M. in Argentinien (16) und von DÖBEREINER u. M. in Brasilien (36).

MAUTALEN versuchte, den Wirkungsmechanismus der von ihm bereits geschilderten Veränderungen im Ca- und P-Stoffwechsel des Kaninchens nach Verabreichung von SM zu ergründen. Tiere, die fünf Tage lang einen wäßrigen Extrakt aus 111 mg getrockneten SM-Blättern erhalten hatten, zeigten eine Stunde nach oraler Eingabe von radioaktiven Ca^{45} - und P^{32} -Testdosen höhere Blutspiegel von Ca^{45} und P^{32} als nicht vorbehandelte Kontrolltiere. Zum Studium der SM-Wirkung auf die Knochenresorption in vivo erhielten weitere Kaninchen eine orale oder intraperitoneale Testdosis Ca^{45} . Nach 30 Tagen, als das radioaktive Ca^{45} nur noch im Skelett vorhanden war, wurde über eine Kontrollperiode von acht Tagen alle 24 Stunden der Urin gesammelt. Am vierten und am fünften Tag dieser Periode erhielten die Kaninchen einen wäßrigen Extrakt aus 400 mg getrockneter SM-Blätter oral. SM bewirkte einen schnellen Anstieg der Ca^{45} -Exkretion im Urin. Diese Ergebnisse zeigen, daß in SM ein Faktor enthalten ist, der einerseits die enterale Absorption von Ca und P erhöht und andererseits die

Knochenresorption in vivo stimuliert. Die Wirkung von Vitamin D setzt im Vergleich dazu an beiden Organen später ein und dauert länger an (100; 101).

Der Grund, weshalb im ersten Experiment 111 mg SM-Blätter verabfolgt wurden, ist in einer in derselben Arbeit veröffentlichten Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der applizierten Solanum-Menge und der 24 Stunden später gemessenen Erhöhung des P-Spiegels zu suchen. Hierbei war im Bereich zwischen 33 und 330 mg der Logarithmus der verabreichten SM-Dosis direkt proportional der Erhöhung des Phosphorspiegels, wobei 111 mg die Dosis mit der halbmaximalen Wirkung darstellte (100).

SANSOM u. M. wiesen auch bei Milchkühen nach, daß SM - in einer Einzeldosis von 200 mg/kg KGW oral gegeben - die Absorption des mit der Nahrung zugeführten Ca deutlich erhöht (133). Das gleiche Phänomen beobachteten O'DONNELL u. M. an Rattendärmen (113).

WASE wies darauf hin, daß die durch SM verursachten Verkalkungen beim Kaninchen irreversibel sind. Nach dem Füttern der Droge beobachtete er einen Anstieg des Gehaltes an kalziumbindendem Protein (CaBP) im Ileum sowie Anzeichen einer Kalziphylaxie in der Haut des Kaninchens. Die gleichfalls registrierte verstärkte Ca- und P-Absorption war im Falle des P reduziert, wenn $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, eine phosphatbindende Substanz, zugefüttert wurde. Dann waren auch Verkalkungsprozesse seltener (158).

Veränderungen, die mit SM behandelte Tiere an den Calcitonin produzierenden parafollikulären Zellen der Schilddrüse aufwiesen, faßte CARRILLO als morphologischen Ausdruck vermehrter Calcitonin-Produktion im Anschluß an die bei der SM-Vergiftung auftretende Hyperkalzämie auf (15).

HUMPHREYS benutzte eine beim Kaninchen nach Solanum-Fütterung rapid auftretende Hyperphosphatämie als alleiniges Kriterium für die Beurteilung der kalzinogenen Aktivität der Pflanze. Im Zusammenhang mit dieser Arbeit gab er auch eine

Übersicht über die 1973 bekannten Eigenschaften des aktiven Prinzips von *Solanum malacoxylon*: Aufgrund seiner Wasserlöslichkeit sei es möglicherweise ein Glykosid, seine Unlöslichkeit in Äther und seine Löslichkeit in 90%igem Alkohol schlossen Lipide und Proteine von der Betrachtung aus. Das Molekulargewicht müsse zwischen 1000 und 2000 liegen. Die Wirkungsart lasse einen Zusammenhang mit Vitamin D vermuten (71). LADIZESKY u. M. bemerken, daß SM in mancher Hinsicht die Wirkung von 1,25-DHCC nachahme. Sie folgern dies aus der Tatsache, daß die Stimulierung der Ca-Absorption bei der Ratte nach SM- und CC-Gaben gleich sei, die Wirkung jedoch bei SM schneller eintrete, wie dies auch bei 1,25-DHCC der Fall sei (83).

TOKARNIA u. M. gelang die experimentelle Auslösung des Espichamento beim Rind mit geringeren Dosen als den bisher gebräuchlichen. Die bekannten pathologischen Veränderungen ließen sich bei einer wöchentlichen *Solanum*-Menge von 40 mg/kg KGW reproduzieren. Eine Einzeldosis von 10 g/kg KGW verursachte Veränderungen gleicher Art, die sich jedoch in den Lungen in geringerem Ausmaß manifestierten. Experimente mit einem Kalb zeigten, daß zwei Jahre altes und bei Raumtemperatur gelagertes SM keine Toxizitätsverluste erlitten hatte (146).

DÖBEREINER und DÄMMRICH (36) fanden bei der Untersuchung der Skelettveränderungen des Rindes nach SM-Vergiftung Übereinstimmung mit dem Bild, das DÄMMRICH u. M. (23) bei der Goldhaferkalzinose gefunden hatten. Das Ausmaß der Veränderungen wurde vor allem von der Dauer der hyperkalzämischen Stoffwechsellage bestimmt (24).

DÖBEREINER u. M. führten die experimentelle SM-Vergiftung auch beim Kalb durch, wobei SM periodenweise verabreicht wurde, um die natürlichen Verhältnisse nachzuahmen. Nach jeder SM-Fütterung kam es zu einem signifikanten Ca-Anstieg im Serum, während der SM-Effekt auf den P-Spiegel nicht signifikant war, und die alkalische Phosphatase sich an-

dauernd im physiologischen Rahmen hielt. Es gelang zwar auch hier, Verkalkungen hervorzurufen, doch waren sie graduell trotz höherer Dosierung als bei ihren früheren Versuchen am erwachsenen Rind viel schwächer ausgebildet als bei diesen und führten außer zu Gewichtsverlust und Inappetenz während der Hyperkalzämie nicht zu klinischer Erkrankung (37). Das Jungtier scheint somit weniger empfänglich für die SM-Wirkung zu sein, was sich auch mit der Beobachtung bei der natürlich vorkommenden Vergiftung deckt, daß hauptsächlich ältere Tiere, insbesondere Kühe, an der *Enteque seco* leiden (17).

Keine Knochenresorption in vivo konnten URIBE u. M. bei Ratten feststellen, denen sie einen wäßrigen Extrakt aus 100 mg getrockneter SM-Blätter oral oder subkutan appliziert hatten. Ein Anstieg des Serum-Ca-Spiegels binnen 24 Stunden sowie verstärkte enterale Ca-Absorption waren dagegen auch bei diesen Experimenten vorhanden (150).

WASSERMAN studierte die Wirkung, die SM beim Küken auf die Ca-Absorption ausübt, nachdem Strontium-Beimengungen in das Futter die 1,25-DHCC-abhängige CaBP-Synthese und somit die Ca-Absorption gehemmt haben. Strontium wirkt bekanntlich durch Hemmung der 1 α ,25-Hydroxylase in der Niere, wodurch verhindert wird, daß 25-OH-CC in 1,25-DHCC, die biologisch aktive Vitamin-D-Form, übergeführt wird. Dieser hemmende Effekt wird durch SM-Fütterung der Küken überwunden, wodurch bewiesen ist, daß SM einen Faktor enthält, der die Wirkung von 1,25-DHCC imitiert (159).

Bezüglich der Fähigkeit, die CaBP-Synthese zu stimulieren, fanden CORRADINO und WASSERMAN eine Beziehung zwischen den Wirkungen von SM und 1,25-DHCC. Ein 0,01%iger SM-Extrakt war hierbei genauso wirksam wie 65 pM 1,25-DHCC. Das bedeutet, daß 1 g getrockneter und zerriebener SM-Blätter die Aktivität von 365 pM 1,25-DHCC enthielten (21).

BASUDDE u. M. verabreichten Kaninchen einen wäßrigen Extrakt aus 2,5 g getrockneter SM-Blätter, der innerhalb von vier

bis acht Stunden zur Hyperphosphatämie führte. Die Blutwerte von Ca und Mg blieben unbeeinflusst, während es nach 24 bis 48 Stunden zu vermehrter Ausscheidung von Ca, Mg und P im Harn kam, was als Beweis für eine verstärkte enterale Absorption dieser Elemente gelten kann. Es war zu keiner Knochenresorption in vivo gekommen. Der hyperphosphatämische Effekt von SM konnte durch gleichzeitige intravenöse Verabreichung von Actinomycin D verhindert werden. Da Actinomycin D als Hemmer der Proteinsynthese bekannt ist, muß das aktive Prinzip von SM auch auf dieser Ebene wirksam sein können (5).

Ein weiterer Beweis für den 1,25-DHCC-artigen Wirkungsmechanismus des aktiven Prinzips von SM war die von VON HERRATH u. M. (62), von LADIZESKY u. M. (84) und von WALLING u. M. (154; 155) gemachte Beobachtung, daß die Wirkung von SM auch bei nephrektomierten Ratten vorhanden war, und somit das aktive Prinzip keiner Umwandlung von 25-OH-CC in 1,25-DHCC bedarf, die ausschließlich in der Niere durch die 1 α ,25-Hydroxylase katalysiert wird. Unterschiedliche Angaben machen die Autoren über das Vorhandensein von Knochenresorption nach SM-Fütterung. VON HERRATH u. M. sahen keinen erhöhten Knochen-Turnover, während WALLING u. M. (155) eine deutliche Steigerung der Knochenresorption beobachteten.

WALLING u. M. nahmen auch einen Wirkungsvergleich zwischen einem wäßrigen Extrakt aus SM-Blättern und 1,25-DHCC vor. Beide Substanzen wurden Ratten intraperitoneal injiziert. Anhand der Stimulierung der P-Absorption kamen sie zu dem Ergebnis, daß 1 g SM-Blätter ungefähr die gleiche Aktivität haben müsse wie 1 μ g 1,25-DHCC (153). LADIZESKY u. M. verglichen die Wirkungen von SM und Vitamin D₂ anhand der Förderung der Ca-Absorption beider Substanzen bei der Ratte. Eine Einzeldosis von 1500 mg SM hat demnach die gleiche Wirkung wie 1000 IE D₂. Auch hierbei fiel auf, daß SM einen schnelleren Wirkungseintritt hatte und entsprechend eher zu wirken aufhörte als Vitamin D₂. Die Höhe der Stimulierung der Ca-Absorption durch SM erwies sich als dosis-

abhängig, wobei die Minimaldosis bei 50 bis 100 mg lag. Der maximale Effekt war bei einer Dosis von 1500 mg noch nicht erreicht (84).

Auch bei diabetischen Ratten stimulierte SM die Ca-Absorption, die bei dieser Krankheit trotz normaler Vitamin-D-Zufuhr über die Nahrung ungenügend ist. Dies zeigt weiter, daß das aktive Prinzip von SM die 1,25-DHCC-Wirkung nachahmen kann, nachdem die verminderte Ca-Absorption beim Diabetes zumindest zum Teil auf ein Versagen der 1,25-DHCC-Bildung zurückgeführt wird (SCHNEIDER u. M., 1975/ 136).

Die Wirkung getrockneter SM-Blätter auf das Schwein untersuchten DONE u. M. (1976/ 39). Die dabei verwandten SM-Dosen zeigten eine viel geringere Wirkung, als dies beim Rind der Fall gewesen wäre. Die beobachteten klinischen Krankheitsanzeichen äußerten sich lediglich in reduzierter Gewichtszunahme und Perioden von Appetitlosigkeit. Außer Knochenveränderungen gab es auch keine pathologischen Veränderungen. Dosen, die beim Rind innerhalb von zwei Tagen einen Anstieg der Serumwerte von Ca und P bedingen, zeigten beim Schwein keine derartige Wirkung. Das Schwein scheint somit für die Giftwirkung von SM weniger empfänglich zu sein als der Wiederkäuer oder auch bestimmte kleine Versuchstiere. Den Grund suchen die Verfasser entweder in einem unterschiedlichen Metabolismus des aktiven Prinzips von SM bei Schwein und Rind oder in einer möglicherweise vorhandenen Toxizitätszunahme beim Wiederkäuer.

Auch WASSERMAN (1975/ 160) und HUMPHREYS u. M. (1975/ 72) stellen die Frage, ob das aktive Prinzip nicht vielleicht metabolisiert werden muß. Die hierzu notwendigen Enzyme müßte der Magen-Darm-Trakt bereitzustellen in der Lage sein, nachdem der orale Applikationsweg von SM nach HUMPHREYS' Erfahrung der wirkungsvollste ist. Dies fanden auch KUNZ (1977/ 82) beim Rind und LADIZESKY u. M. (1974/ 85) bei Schaf, Kaninchen und Ratte. Für eine Metabolisierung sprechen auch Untersuchungen von RUKSAN u. M. (1976/ 132) am

Schaf, die die Wirkung eines wäßrigen Extraktes aus SM-Blättern untersuchten, der auf verschiedenen Wegen appliziert worden war. Ein signifikanter Anstieg der Blutwerte von Ca und P wurde nur bei oraler Applikation erreicht, nicht jedoch bei parenteraler. Wurde SM jedoch vorher in Pansensaft inkubiert, den hier vorhandenen Enzymen also Gelegenheit gegeben, ihre Wirkung zu entfalten, so gab es eine signifikante Erhöhung der Ca- und P-Blutspiegel auch bei intravenöser, intramuskulärer oder subkutaner Verabreichung, wobei die Wirkung bei intravenöser Injektion am schnellsten eintrat, schneller auch als auf oralem Wege.

An Schweinen, die an einer hereditären Vitamin-D-abhängigen Rachitis litten, untersuchten HARMEYER u. M. (54) die Wirkung von SM und einigen Vitamin-D-Metaboliten. Während 25-OH-CC und 5,6-trans-25(OH)-CC keine Wirkung zeigten, trat nach Gaben von 1,25-DHCC, 1 α -OH-CC und SM neben einer Normalisierung der Blutparameter und einer Erhöhung der Ca-Absorption auch eine Besserung des klinischen Bildes ein. Dies ist ein weiterer Hinweis für die Ähnlichkeit der Wirkungen von 1,25-DHCC und von SM.

BASUDDE und HUMPHREYS (1976/6) fassen die von Dosis und Zeit abhängige Wirkung von SM anhand von Untersuchungen, die sie an der Vitamin-D-Mangel-Ratte gemacht haben, folgendermaßen zusammen: Kleine Dosen, die länger als eine Woche verabreicht wurden, zeigten als "therapeutische Wirkung" einen intestinalen Effekt. Die Absorption von Mineralien und deren Ausscheidung durch den Harn wurden gefördert. Große Dosen, über längere Zeit verabreicht, führten zu einer Mobilisierung der Mineralsubstanzen und der organischen Matrix des Knochens. Dies bezeichnen sie als Skelettwirkung. Den beiden ersten folgte der renale Effekt, gekennzeichnet durch Abnahme der Ausscheidung von Mineralstoffen und Hydroxyprolin im Harn im Anschluß an die vorausgegangenen Exkretionsanstiege.

PETERLIK u. M. erreichten 1975 die Reinigung und die Charakterisierung einiger Eigenschaften des aktiven Prinzips von SM (121). PETERLIK u. M. berichten weiter (1976/ 119), daß das gereinigte aktive Prinzip von SM zwar die physiologische Antwort von 1,25-DHCC beim Kücken auszulösen in der Lage sei, aber nicht mit 1,25-DHCC wirksam um dessen intestinalen Rezeptor konkurriere. Dies geschehe erst, wenn der Extrakt mit β -Glucosidase behandelt wird. Nachdem die Eigenschaften des aktiven Prinzips von SM sich auch bei der Chromatographie, im UV-Absorptionsspektrum und bei der Massenspektrometrie von denen des 1,25-DHCC nicht unterscheiden ließen, zogen HAUSSLER u. M. (59) den Schluß, daß das Vitamin-D-ähnliche Prinzip in SM ein Sterol-Glykosid mit dem 1,25-DHCC-Molekül als aktiver Sterolkomponente sein müsse. WASSERMAN u. M. (162) vermuten, daß im Molekül des SM-Faktors drei Hydroxylgruppen, zwei am A-Ring des Sterol-Moleküls, die dritte am Kohlenstoff-Atom C₂₅ der Seitenkette vorliegen. Bei ihren Experimenten gelang WASSERMAN u. M. aus 45 g ursprünglichen SM-Blattpulvers die Extraktion von 4 μ g aktiven SM-Faktors.

Weitere außereuropäische Kalzinosen

Die Naalehu disease auf Hawaii

Eine bovine Arteriosklerose, die der Enteque seco ähnlich zu sein schien, wurde auf Hawaii erstmals von HENDERSHOT (1942/ 61) beschrieben. LYND u. M. (1965/ 96) beobachteten ein periodisches Auftreten der Erkrankung. Bei Blutuntersuchungen fanden sie sowohl die zellulären Bestandteile als auch die Plasma-Elektrolyte im physiologischen Bereich. Die Elektrokardiographie beschrieben sie als eine klinische Methode zur Diagnostik der Erkrankung. Pathologisch-anatomische Untersuchungen erbrachten das Bild einer generalisierten Verkalkung der Weichgewebe, insbesondere im kardiovaskulären System und in der Lunge. Während die Knochen grobsinnlich dicht und hart, mikroskopisch aber normal befunden wurden, zeigten die Gelenkknorpel Veränderungen. Eine klinische Besserung erkrankter Tiere wurde nach Futterwechsel beobachtet. Nach Anwendung von Dinatriumphosphat als Trinkwasserzusatz wurden in einer betroffenen Herde keine Erkrankungen mehr gesehen.

WILLERS u. M. (1965/ 170) beobachteten während eines Zeitraums von drei Jahren die Entwicklung der Erkrankung bei einer Rinderherde, die in ein Areal gebracht worden war, in dem die Krankheit enzootisch vorkam. Eine Kontrollherde kam auf eine Weide, bei der die Krankheit noch nie aufgetreten war. Auch bei diesen Untersuchungen bewährte sich zur Erkennung und Messung des Fortschreitens der Erkrankung die Elektrokardiographie, wobei die für die Naalehu disease typischen EKG-Veränderungen sich binnen zwei Jahren entwickelten und nach Entfernung von den inkriminierten Weiden innerhalb des gleichen Zeitraums verschwanden. Blutuntersuchungen ließen keine besonderen Unterschiede zwischen den beiden Herden erkennen. Als krankheitsverursachender Faktor wurde die chemische Zusammensetzung des Futters angesehen, obgleich Analysen von Boden, Wasser und Pflanzen der beiden Weiden keine wesentlichen Unterschiede erbrachten und auch Giftpflanzen nicht gefunden wurden.

LYND (1969/ 95) vermutet die Ursache der Erkrankung in einer ungünstigen Zusammensetzung des Futters. Ein sehr hohes K- und Ca-Angebot solle bei gleichzeitigem P- und Mg-Mangel zu einem Mißverhältnis in der Mineralversorgung führen. Ein vorliegender Mg-Mangel würde verstärkt durch ein hohes Angebot an Ca, K und P, wie es in ähnlicher Weise bei der Naalehu disease vorliege. Die Besserung des klinischen Bildes hänge von einer Korrektur dieser Mineralimbilanz ab.

ROSS u. M. (1970/ 128) fanden auf den inkriminierten Weiden in sehr großer Anzahl die Pflanze *Solanum sodomaeum*. Die botanische Verwandtschaft dieser Pflanze zu *Solanum malacoxylon* veranlaßte sie, deren Toxizität an Küken von Japanwachteln und Hühnern zu untersuchen. Getrocknete, reife Früchte von *Solanum sodomaeum* erwiesen sich für die Versuchstiere als extrem toxisch: In einer Menge von 2% im Futter führten sie bei zwei Tage alten Wachteln zu einer hohen Mortalität, und ein Zusatz von 0,5% führte zu schlechter Futtermittelverwertung und Wachstumsdepression. Drei Tage alte Hähnchen reagierten ähnlich, wenn auch graduell geringer.

In einer weiteren Arbeit bezogen ROSS u. M. (1971/ 129) auch getrocknete und zerriebene Blätter von *Solanum sodomaeum* mit in ihre Untersuchungen ein und verglichen deren Wirkung mit der von getrockneten Früchten und der Wirkung von getrockneten und zerriebenen *Solanum-malacoxylon*-Blättern. Dabei erwiesen sich die *Solanum-sodomaeum*-Blätter im Gegensatz zu den getrockneten Früchten für Küken als untoxisch. Die Wirkung der *Solanum-malacoxylon*-Blätter übertraf jedoch die Wirkung der *Solanum-sodomaeum*-Früchte noch bei weitem. Außerdem führten letztere zu einer Hypokalzämie, während die *Solanum-malacoxylon*-Blätter eine Hyperkalzämie verursachten.

In einer Übersichtsstudie über das Auftreten verschiedener pflanzeninduzierter Kalzinosen schloß SIMESSEN (1977/ 137) auch *Cestrum diurnum* als Ursache der Naalehu disease nicht aus. Auch *Cestrum diurnum* ist auf Hawaii heimisch (WASSERMAN, 1975/ 160).

Die Manchester wasting disease auf Jamaika

Im Jahre 1950 beschrieben ARNOLD und FINCHAM (3) eine auf Jamaika vorkommende Verkalkungskrankheit bei Rind und Ziege. Die Erkrankung wurde nur bei Tieren beobachtet, die auf Hochland-Weiden mit P- und N-armen Bauxit-Böden gehalten wurden. Innerhalb der Herden betrug die Morbidität 10%. Trächtige Tiere erkrankten schwerer, wobei peripartal gehäuft Todesfälle auftraten. Wurden die Rinder auf andere Weiden verbracht, trat eine Besserung des klinischen Bildes ein. Tiere, die in niederen Regionen gehalten wurden, erkrankten nicht. Erkrankte Tiere fielen durch Steifheit, Schwierigkeiten bei der Bewegung der Gelenke und schwere Herzinsuffizienz auf. Pathologisch-anatomische Untersuchungen erbrachten schwere, plaque-ähnliche Verkalkungen im kardiovaskulären System sowie Veränderungen an den Gelenkknorpeln. In Blutproben sowohl von Tieren betroffener Weiden als auch von Tieren, die in niederen Regionen gehalten wurden, schien der Serum-Ca-Gehalt leicht erhöht und der Serum-P-Gehalt leicht erniedrigt zu sein; der Serum-Mg-Gehalt war normal. Am Ende der Krankheit sank der Hämoglobin-Gehalt des Blutes leicht ab; eine größere Abweichung von den Werten der Vergleichstiere war jedoch nicht festzustellen. Die vorherrschende Pflanze auf den inkriminierten Weiden war das P-arme "crab grass", *Stephanurum secundatum*; daneben kamen andere Gräser, niedere Büsche und Leguminosen, nicht jedoch *Solanum malacoxylon* vor.

Bei einem Vergleich der Symptome stellten ARNOLD und BRAS (2) 1956 fest, daß die inzwischen als "Manchester wasting disease" bezeichnete Krankheit das gleiche Syndrom beinhaltet wie *Enteque seco* und *Naalehu disease*. Auch bei der Manchester wasting disease bestehe der wesentliche pathologische Prozeß in einer metastatischen Verkalkung verschiedener Weichgewebe. Als Ursache vermuteten die Autoren ein Überangebot von Ca in der Nahrung bei gleichzeitiger hoher Calciferol-Aufnahme verbunden mit einem echten oder bedingten Mangel an Spurenelementen.

ARNOLD berichtete weiter (1969/ 1), daß sich pathologische Veränderungen wie bei der Manchester wasting disease hervor-

rufen ließen, wenn ein Überangebot von Ca und Vitamin D in der Nahrung vorhanden war und gleichzeitig ein Mg-Mangel vorlag. Dies betrachtete er als Unterstützung seiner Hypothese, bei der natürlich vorkommenden Manchester wasting disease müsse von außen her, z. B. vom Gras, eine Substanz mit Vitamin-D-ähnlicher Wirkung aktiv werden und eine Imbalanz unter den Mineralstoffen Ca, P und Mg hervorrufen.

WASSERMAN wies darauf hin, daß auch auf Jamaika Cestrum diurnum wachse (1975/ 160), und SIMESSEN schloß auch für die Manchester wasting disease diese Pflanze als ursächlichen Faktor nicht aus (1977/ 137).

Cestrum-diurnum-Vergiftung bei Pferd und Rind in Florida

KROOK u. M. (81) berichteten 1975 von einer chronischen, schwächenden Krankheit bei Pferden in Florida, die mit progressivem Gewichtsverlust und Lahmheit von wachsendem Grad einherging. Der Plasma-Gehalt des Ca war hierbei in unterschiedlichem Ausmaß erhöht. Pathologisch-anatomisch äußerte sich das Leiden in dystrophischer Verkalkung der elastischen Gewebe, insbesondere der Hauptarterien, der Sehnen und der Bänder. Weiter beobachteten sie eine generalisierte Osteopetrose, die sie auf eine verminderte Parathormon-Produktion und auf eine vermehrte Calcitonin-Produktion zurückführten. Die Anwesenheit der Pflanze Cestrum diurnum auf den betroffenen Weiden und die Entdeckung einer aktiven, Vitamin-D-ähnlichen Substanz in dieser Pflanze veranlaßten sie zu der Vermutung, Cestrum diurnum sei die Ursache der Erkrankung.

In einer weiteren Arbeit beschrieben KROOK u. M. (1975/ 80) eine Cestrum-diurnum-Vergiftung bei einem Bullen, deren klinisches und pathologisch-anatomisches Bild dem der Vergiftung beim Pferd entsprachen.

WASSERMAN u. M. (1975/ 161) wiesen nach, daß Cestrum diurnum ebenso wie Solanum malacoxylon in der Lage ist, die durch

Aufnahme von Strontium induzierte Hemmung der Umwandlung von 25-OH-CC in 1,25-DHCC, den aktiven Metaboliten von Vitamin D₃, zu hemmen, und es somit dieselben biologischen Eigenschaften hat wie das aktive Prinzip von Solanum malacoxylon und 1,25-DHCC selbst. Die Pathogenese der Krankheit besteht wie bei der Solanum-malacoxylon-Vergiftung in einer Umgehung des Regulationsmechanismus der Ca- und P-Absorption.

Das aktive Prinzip von Cestrum diurnum ist in organischen Lösungsmitteln stärker löslich als das aktive Prinzip von Solanum malacoxylon. Dies führte HAUSSLER u. M. (1976/ 59) zu der Annahme, daß 1,25-DHCC, falls es auch das aktive Prinzip von Cestrum diurnum darstellen sollte, in diesem Falle in einer Verbindung mit weniger Karbohydrat-Gruppen vorliegen müsse.

WASSERMAN u. M. (1977/ 163) nahmen einen Vergleich der Wirkungen von Cestrum diurnum und Solanum malacoxylon vor. Bei Küken, deren Ca-Absorption durch Sr-Gaben gehemmt war, trat nach Beimischung in die Diät von 0,1% Solanum malacoxylon oder 1% Cestrum diurnum eine Normalisierung der Ca-Absorption ein.

Weitere Berichte über enzootisch auftretende Kalzinosen

Über eine Kalzinose bei Ziegen berichteten 1973 NEUMANN u. M. (108) aus Israel. Angaben über in Frage kommende ursächliche Faktoren liegen nicht vor. Große Ähnlichkeit zu den bekannten Rinderkalzinosen fanden TUSTIN u. M. (1973/ 149) bei der Untersuchung einer enzootischen Kalzinose von Schafen in Südafrika. Das klinische Bild bestand in fortschreitender Steifheit, Verfall und schließlich Tod infolge Herzversagens. Pathologisch-anatomisch waren Verkalkungen im kardiovaskulären System, der Lunge, den Nieren und der Pleura beobachtet worden. Die Möglichkeit eines ursächlichen kalzinogenen Faktors in einer Pflanze wurde erwogen. GILL u. M. (48) beschrieben 1975 eine enzootische Kalzinose bei Schafen in Indien, die durch Degeneration und Mineralisation des elastischen Binde-

gewebes von Aorta, Arterien, Lunge und Nieren sowie durch Ulzerationen der Gelenkknorpel gekennzeichnet war. Das Ca x P-Produkt im Blutserum war relativ niedrig, desgleichen die Mg-Konzentration; der Serum-P-Gehalt war normal. Als Ursache wurde eine komplexe Mineralstoff-Imbalanz angesehen; die Möglichkeit einer Pflanzenvergiftung wurde jedoch nicht ausgeschlossen. COPLAND (19) berichtete 1975 über eine Kalzinose bei Rindern in Papua/Neu Guinea, die enzootisch nur in einem Tal auftrat. 10% der Herde waren befallen, wobei Krankheitsfälle in allen Altersgruppen auftraten. Das klinische Bild wird als ähnlich denen bei der Enteque seco und der enzootischen Kalzinose in Bayern beschrieben. Bei stark erkrankten Tieren waren die Blutspiegel von Ca und P erhöht. Postmortal fiel eine metastatische Mineralisation der Weichgewebe auf. Wurden die Tiere von den Weiden entfernt, verschwanden die Krankheitsanzeichen. Angaben über mögliche Ursachen der Krankheit lagen noch nicht vor; es wird jedoch betont, daß *Solanum malacoxylon* in Papua nicht vorkommt. Ob *Trisetum flavescens* vorkommt, war zum Zeitpunkt der Veröffentlichung der Arbeit noch nicht geklärt.

Eigenschaften und Wirkungen von Vitamin D

Im Jahre 1919 kam MELLANBY zu der Erkenntnis, daß in Fischlebertran ein antirachitisches Prinzip enthalten sei (104). HULDSCHINSKY wies im gleichen Jahr nach, daß UV-Bestrahlung eine ähnliche Wirkung zeigt (70). Diesem unbekannten antirachitischen Prinzip wurde der Name "Vitamin D" gegeben (97).

Mit der Beschreibung der chemischen und physikalischen Eigenschaften der D-Vitamine befaßte sich in den Dreißiger-Jahren die Arbeitsgruppe um WINDAUS. Ihr gelang es, durch Erhitzen des Bestrahlungsprodukts des Ergosterins auf 200°C Produkte zu erhalten, die ihre antirachitische Wirkung verloren hatten, ihre toxische Wirkung dagegen nicht (171). In einer Reihe von Versuchen führten sie den Beweis, daß derjenige Stoff, der die toxischen Wirkungen hervorruft, bei der Erhitzung verändert wird. (Das verwendete Ergosterin-Bestrahlungsprodukt hatte die "übliche Wirksamkeit und Giftigkeit", d. h., die antirachitische Grenzdosis bei der Ratte von 0,05γ, die toxische Grenzdosis bei der Maus von 0,1 mg). Über das thermische Verhalten von Vitamin D₂ berichteten WINDAUS u. M. (1932/179), daß beim Erhitzen auf 190°C Isomere entstehen. 1938 führten sie weiter aus, daß sowohl Vitamin D₂ als auch Vitamin D₃ beim Erhitzen auf 200°C in jeweils zwei Umwandlungsprodukte übergeht, und zwar Vitamin D₂ in Pyro-calciferol und Iso-pyro-calciferol und Vitamin D₃ in Pyro-vitamin D₃ und Iso-pyro-vitamin D₃ (172).

In den folgenden Jahren versuchte man, eine Charakterisierung der biologischen Wirkungen des Vitamin D zu erreichen. Seit 1928 war bekannt, daß bestrahltes Ergosterin bei Kindern und beim Kaninchen als Versuchstier den Blutwert an anorganischem Phosphat erhöht (WARKANY/ 156). 1930 gelang der Nachweis, daß dies auf eine Erhöhung der Phosphat-Absorption unter dem Einfluß von Vitamin D zurückzuführen ist (WARKANY/ 157). Dieses Phänomen wurde als Nebeneffekt verstärkter Ca-Absorption angesehen, die ihrerseits als das antirachitische Prinzip des Vitamin D erkannt wurde (NICOLAYSEN, 1937/ 109). Die Wirkun-

gen von Vitamin D teilten NICOLAYSEN u.M. 1953 in Primär- und Sekundärwirkungen ein. Zu ersteren gehörten neben der Verstärkung der Ca-Absorption in Duodenum und oberem Jejunum der Einfluß des Vitamin D auf die Knochenmatrix, während zu letzteren nach wie vor die Verstärkung der P-Absorption gezählt wurde (110), von der man auch 1956 noch annahm, daß sie auf passiver Diffusion beruhe (98).

1960 berichteten HARRISON u. M., daß Cortisol der Förderung der Ca-Absorption durch Vitamin D entgegenwirkt (55).

Der erste Bericht über einen Ca-bindenden, Vitamin-D-abhängigen Faktor in Kükendarm-Homogenaten stammt von WASSERMAN und TAYLOR aus dem Jahr 1963 (164). Die Autoren führten später weiter aus, daß dieser Faktor nur in der Proteinfraction der Homogenate vorhanden war und in einem bestimmten Verhältnis zur Ca-Absorptionsrate stand (165). In den folgenden Jahren wurden Ca-bindende Proteine (CaBP) auch bei der Ratte (74; 79), beim Hund (145), beim Affen (145), bei Rind, Schwein, Meerschweinchen, Pferd und Mensch (166) nachgewiesen, wobei bisweilen Unterschiede in ihren chemischen Eigenschaften festgestellt worden sind (64).

Ein großer Schritt in der Erforschung des Wirkungsmechanismus von Vitamin D war die Entdeckung eines polaren Vitamin-D₃-Metaboliten von BLUNT u. M. (1968/ 8). Seine Struktur wurde als 25-Hydroxycholecalciferol (25-OH-CC) bestimmt. Er war bei Ratten hinsichtlich der Heilung einer experimentellen Rachitis 1,4-mal so wirksam wie Vitamin D₃. Der Nachweis, daß hepatektomierte Tiere diesen Metaboliten nicht bilden können, wies auf die Leber als Produktionsort hin (PONCHON u. M., 1969/ 125).

Einige Arbeitsgruppen berichteten über einen Anstieg verschiedener Enzymaktivitäten in Darmschleimhauthomogenaten im Anschluß an Vitamin-D-Applikation, darunter die alkalische Phosphatase und die Ca-abhängige ATP-ase (58; 66). Beide Enzyme ließen sich in den Mikrovilli lokalisieren. Die funktionellen Beziehungen dieser Enzyme zum Vitamin-D-Stoff-

wechsel sind noch nicht geklärt. Ein Zusammenhang zwischen der alkalischen Phosphatase, der Ca-abhängigen ATP-ase und dem Vitamin-D-abhängigen Ca-Transport scheint wahrscheinlich, da der Anstieg der Aktivitäten dieser Enzyme zeitlich mit der Verstärkung der Ca-Absorption zusammenfällt (112;103).

Die Beobachtung, daß nach Verabreichung von radioaktiv markiertem Vitamin D_3 an Küken nach einer gewissen Zeit die Radioaktivität in der Kernchromatinfraction der Darmmukosa zu finden war (HAUSSLER u. M., 1968/ 57), führte zur Entdeckung eines weiteren Metaboliten von Vitamin D_3 , der noch stärker polar als 25-Hydroxyvitamin D_3 war (LAWSON u. M., 1969/ 89). Er wird ausschließlich in der Niere synthetisiert (FRASER u. M., 1970/ 44) und läßt sich nach Nephrektomie nicht mehr aus Darmgewebe isolieren, während seine Synthese durch Urämie nicht verhindert wird (GRAY u. M., 1971/ 50). Im Gegensatz zu Vitamin D_3 und 25-Hydroxycholecalciferol, die ihre Wirkungsmaxima hinsichtlich der intestinalen Ca-Absorption nach 24 bis 48 Stunden haben, wirkt dieser Metabolit am stärksten nach 9 Stunden und hat zu diesem Zeitpunkt die 13-fache Wirkung von Vitamin D_3 . Nach 24 Stunden ist er viermal so wirksam wie Vitamin D_3 und zweimal so wirksam wie 25-Hydroxycholecalciferol. Er wird als der biologisch aktivste Vitamin- D_3 -Metabolit am Darm bezeichnet (MYRTLE u. M., 1971/ 106). Da er sich nach Applikation von 25-Hydroxyvitamin- D_3 aus Darmgewebe isolieren ließ, mußte er aus Vitamin D_3 über 25-Hydroxyvitamin- D_3 hervorgehen (HAUSSLER u. M., 1971/ 56). Dieser Metabolit wurde von LAWSON u. M. (1971/ 87) und HOLICK u. M. (1971/ 68) gleichzeitig als 1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25-DHCC) identifiziert. Er wird ausschließlich in den Mitochondrien der Nierenrinde unter Mitwirkung des Enzyms 25-Hydroxycholecalciferol-1-Hydroxylase (25-OH-CC-1-OH-ase) aus 25-OH-CC gebildet (GRAY u. M., 1972/ 51; MIDGETT u. M., 1973/ 105).

Der Wirkungsmechanismus von 1,25-DHCC am Darm ist dem der klassischen Steroidhormone ähnlich. So ist es bereits in sehr geringen Mengen aktiv, und der Wirkungsort ist der Zell-

kern der Darmzellen. Dies und die chemische Verwandtschaft zu den Steroidhormonen läßt die Betrachtung der Niere als endokrine Drüse für die Produktion des Hormons 1,25-DHCC zu (NORMAN, 1974/ 111; FRASER u. M., 1973/ 45).

Das Ausmaß der Produktion von 1,25-DHCC ist abhängig vom Ca- und P-Gehalt der Nahrung. Niedrige Werte dieser Mineralstoffe fördern die 1,25-DHCC-Synthese und mithin die Ca-Absorption (BOYLE u. M., 1971/ 9; TANAKA u. M., 1973/ 141).

Der Anstieg von 1,25-DHCC im Blut nach Ca-Mangel ist abhängig von der Anwesenheit von Schilddrüse, Nebenschilddrüse oder beiden, was vermuten läßt, daß dem Parathormon dabei eine Vermittlerrolle zukommt. Nach Phosphatmangel steigt der 1,25-DHCC-Spiegel jedoch unabhängig von der Anwesenheit dieser Drüsen. Somit wird dieser Vorgang durch das Parathormon nicht beeinflußt (HUGHES u. M., 1975/ 69).

Im Gegensatz zur früheren Auffassung unterliegt auch die Phosphat-Absorption einem spezifischen Transportmechanismus, auf den 1,25-DHCC, unabhängig von seiner Wirkung auf die Ca-Absorption, förderlich wirkt (WASSERMAN u. M., 1973/ 167; DE LUCA, 1974/ 27; WALLING, 1977/ 152). TANAKA u. M. vermuten, daß die Erhöhung des Serum-P nach 1,25-DHCC-Gaben bei Ratten vor allem gesteigerter tubulärer Reabsorption zuzuschreiben ist, da Nephrektomie diesen Effekt reduzierte, während P-Mangel in der Nahrung die Hyperphosphatämie nicht beeinträchtigte (1975/ 143).

1,25-DHCC, 25-OH-CC und Vitamin D₃ stimulieren die Mobilisierung von Ca aus dem Knochen. Dabei ist, ähnlich wie am Darm, 1,25-DHCC der am schnellsten und am intensivsten wirkende Metabolit. Bei nephrektomierten Ratten verlieren 25-OH-CC und Vitamin D₃ ihre Wirkung, womit bewiesen ist, daß auch am Knochen 1,25-DHCC die aktive Cholecalciferol-Form ist (RAISZ u. M., 1972/ 126; WONG u. M., 1972/ 176).

Küken, die Strontium-Beimengungen im Futter erhielten, waren nicht in der Lage, Ca zu absorbieren. Der Grund hierfür liegt in der Blockade des Synthese-Schrittes von 25-OH-CC zu 1,25-

DHCC, womit auch die Bildung von CaBP verhindert wird (OMDAHL u. M., 1972/ 115).

Auch Actinomycin D und Cycloheximid verhindern die Ca-Absorption: Actinomycin D durch Hemmung der CaBP-Synthese, Cycloheximid durch Erniedrigung des Nierenspiegels der 1 α -Hydroxylase (TSAI u. M., 1973/ 147).

Ein kalziumbindendes Protein ist nicht nur aus Darmgewebe isoliert worden. PIAZOLO u. M. gelang die Isolierung eines derartigen Proteins aus menschlichem Nierengewebe, wobei eine besonders hohe Konzentration in der Rinde vorhanden war (1971/ 122). TAYLOR u. M. berichteten über das Vorkommen in der Kükeniere. Die Abnahme des Nieren-CaBP ging bei Vitamin-D-frei ernährten Küken viel langsamer vor sich als die Abnahme des Darm-CaBP und korrelierte signifikant mit dem Serum-Ca-Spiegel, weshalb sie ihm zur Aufrechterhaltung der Ca-Homöostase durchaus Bedeutung beimessen (1972/ 144). Ein Eingreifen in den Mechanismus der Ca-Reabsorption wird für möglich gehalten (WASSERMAN u. M., 1974/ 168). Weitere Fundorte für CaBP sind der Uterus der Legehenne (168) und die Nebenschilddrüse. Vitamin-D-frei ernährte Welpen zeigten nach 40 Tagen eine Erhöhung des Parathormon-Gehaltes im Serum, der nach 25-OH-CC-Gaben schnell abfiel, während der CaBP-Gehalt von Nebenschilddrüsen und Darmmukosa signifikant anstieg. Daraus schließen die Autoren, daß möglicherweise auch die Nebenschilddrüse ein Erfolgsorgan für Vitamin D ist (OLDHAM u. M., 1973/ 114). LUMB u. M. vermuten, daß Vitamin D direkt auf die Nebenschilddrüse einwirkt und dort eventuell die Synthese von CaBP bewirkt (1974/ 94).

Erhöhte 1,25-DHCC-Werte wurden während Wachstum und Reproduktion gefunden, also zu Zeiten erhöhten Ca-Bedarfs. So ist der Blutspiegel bei heranwachsenden Hühnern, Ratten und Menschen zwei- bis dreifach erhöht, bei Ratten während der Laktation dreifach und bei Hühnern in der Legeperiode neunfach (PIKE u. M., 1977/ 123).

Die zentrale Position bei der Regulation der 1,25-DHCC-Produktion hat das 1 α -Hydroxylase-System der Niere inne. Über

dieses System stimuliert das Parathormon die 1,25-DHCC-Synthese, was zur Freisetzung des Ca aus dem Knochen und zur Verstärkung der Ca-Absorption aus dem Darm führt. Die Ca-mobilisierende Wirkung am Knochen wird vom Parathormon noch unterstützt, für die Wirkung am Darm ist 1,25-DHCC selbst verantwortlich. Dieser Anstieg des Ca-Blutspiegels führt wiederum zur Unterdrückung der Parathormonausschüttung (FRASER u. M., 1973/ 45). Nach LARKINS u. M. fördert 1,25-DHCC durch vermehrte Synthese von Nieren-CaBP auch die Ca-Reabsorption in den Nierentubuli. Auch hier liegt ein negativer feed-back-Mechanismus vor, indem der erhöhte Ca-Spiegel die Ca-Reabsorption unterbricht (1974/ 86).

Ohne Umweg über das Parathormon wirkt der Blut-Phosphat-Spiegel auf die 1 α -Hydroxylase ein. Ratten, die eine Diät mit niedrigem Phosphatgehalt erhalten hatten, waren unabhängig von der Anwesenheit ihrer Schild- und Nebenschilddrüsen zur 1,25-DHCC-Synthese in der Lage. Hypophosphatämie stimuliert also die 1,25-DHCC-Synthese direkt (DE LUCA, 1974/ 27). Ratten mit einer Ca-armen Diät konnten auch 1,25-DHCC bilden, verloren diese Fähigkeit jedoch 48 Stunden nach der Entfernung ihrer Schild- und Nebenschilddrüsen. Dies konnte verhindert werden, wenn sie entweder einen Parathyreoidea-Extrakt erhielten oder ihr Trinkwasser durch eine Ca-Glukonat-Glukose-Lösung ersetzt wurde, die ihren hohen Serum-P-Wert in den physiologischen Bereich zurückführte. Bis zu einem Serum-P-Wert von 7 bis 8 mg/100 ml produzierten Ratten ohne Schild- und Nebenschilddrüsen 1,25-DHCC, bei höheren Werten 24,25-DHCC (TANAKA u. M., 1973/ 141). Bei nichtoperierten Ratten wurde unter hypokalzämischen Bedingungen 1,25-DHCC synthetisiert, bei Normokalzämie 1,25-DHCC und 24,25-DHCC und bei Hyperkalzämie ausschließlich 24,25-DHCC (DE LUCA, 1973/ 25; GARABEDIAN u. M., 1972/ 47).

Der auf die 1 α -Hydroxylase einwirkende regulierende Faktor ist unter hypokalzämischen Bedingungen das Parathormon und unter normo- bis hyperkalzämischer Stoffwechselsituation das Phosphat (DE LUCA, 1974/ 26). Das Enzym, das die Bildung von

24,25-DHCC katalysiert, ist die 25-OH-CC-24-Hydroxylase. Voraussetzung für sein Wirken ist, daß das Substrat ein Vitamin-D-Molekül mit einer 25-OH-Gruppe ist. So bildet es entweder aus 25-OH-CC 24,25-DHCC oder aus 1,25-DHCC 1,24,25-(OH)₃-D₃. Alle 24-hydroxylierten Vitamin-D-Formen sind weniger wirksam als ihre nichthydroxylierten Vorläufer. Sie werden beim Huhn schnell metabolisiert und mit dem Kot ausgeschieden. Die 24-Hydroxylation ist beim Huhn sehr wahrscheinlich ein Weg für die Inaktivierung und Exkretion des Vitamin-D-Moleküls (DE LUCA, 1976/ 28).

1~~α~~-Hydroxyvitamin-D₃ ist ein bedeutendes synthetisches 1,25-DHCC-Analog. Seine Wirkung, die qualitativ der 1,25-DHCC-Wirkung gleich und quantitativ eher stärker ist, hat bei gleicher Wirkungsdauer einen schnelleren Wirkungseintritt (DE LUCA, 1974/ 27; PECHET u. M., 1974/ 118). Weitere synthetische Vitamin-D-Analoga sind 5,6-trans-CC und 5,6-trans-25-OH-CC. 5,6-trans-CC fördert bei der nierenlosen Ratte die intestinale Ca-Absorption sowie die Ca-Mobilisierung aus dem Knochen, während sein 25-OH-Derivat nur die Ca-Absorption stimuliert (HOLICK u. M., 1972/ 67).

Mittlerweile ist auch über die Wirkungsweise von 1,25-DHCC auf molekularer Ebene einiges bekannt. Voraussetzung für die physiologische Antwort von 1,25-DHCC am Darm ist wohl seine Lokalisation im Zellkern des Erfolgsorgans (BRUMBAUGH u. M., 1974/ 10). Hierzu wird es zuerst an ein im Zytoplasma vorhandenes "binding protein" gebunden und zum Zellkern transportiert, wo es sich mit dem Chromatin verbindet (NORMAN, 1974/ 111). LAWSON u. M. (1974/ 88) berichten von zwei 1,25-DHCC-bindenden Kernproteinen, die hochspezifisch und infolge begrenzter Bindungskapazität saturierbar seien. Nach BRUMBAUGH u. M. (10) werden von ihnen in vitro nahe 1,25-DHCC-Verwandte wie 25-OH-CC nicht gebunden. Die Lokalisation des 1,25-DHCC in der Zelle ist temperaturabhängig. Bei 0°C lag es in vitro in der Cytosol-Fraktion vor, bei 37°C in der Chromatin-Fraktion (BRUMBAUGH u. M., 1974/ 11).

Bei Anwesenheit von 1,25-DHCC im Kern wird auf noch unbekannte Weise m-RNS gebildet. Dadurch kommt es zur Bildung neuer Proteine, die essentiell für das Entstehen der physiologischen Antwort des Organismus sind. Eines dieser Proteine ist das CaBP (NORMAN, 1974/ 111). Die CaBP-Synthese ist also eine de-novo-Synthese, die durch Gen-Transkription entstanden ist und nicht etwa über einen inaktiven Vorläufer (EMTAGE u. M., 1973/ 42).

Wie die Bindungskapazität der 1,25-DHCC-bindenden Proteine, so ist auch das Ausmaß der intestinalen Ca-Absorption begrenzt (BRUMBAUGH u. M./ 10). Als derjenige Ort, an dem das Ca von seinem "binding protein" gebunden wird, wird die Oberfläche der Mikrovilli der Darmepithelzellen angesehen (KOWARSKI u. M., 1975/ 79; NORMAN, 1974/ 111).

Auch anderen Substanzen kommt bei der Regulation des Vitamin-D-Stoffwechsels Bedeutung zu, die vielfach noch nicht hinreichend geklärt ist. CORRADINO fand, daß in der Kükendarmkultur nach Vitamin-D₃-Inkubation nicht nur die CaBP-Synthese stimuliert war, sondern sich auch der Gehalt an zyklischem AMP erhöht hatte. Aus den Ergebnissen, die auch eine mengenmäßige Korrelation erbrachten, schloß er auf eine Wechselwirkung zwischen Vitamin D₃, dem CaBP, der Adenylzyklase und dem intestinalen Ca-Absorptions-Mechanismus (1974/ 20). SPANOS u. M. berichteten, daß bei Küken im Anschluß an Prolaktininjektion der 1,25-DHCC-Spiegel im Blut angestiegen war. Sie werteten dies als Erklärung für die bekannte Tatsache, daß Legehühner einen erhöhten Prolaktin-Blutspiegel und eine vermehrte Ca-Absorption haben (1976/ 139). Auch Testosteron, Östradiol und andere Geschlechtshormone beeinflussen den Vitamin-D-Stoffwechsel, zumindest bei eierlegenden Spezies (DE LUCA u. M., 1977/ 29). Calcitonin und Thyreocalcitonin, die beide auf die Osteozytogenese einwirken und dort Antagonisten des Parathormons sind, scheinen unabhängig von der Anwesenheit von Vitamin D zu wirken, wie Untersuchungen von DE LUCA u. M. (1977/ 29) und HIRSCH u. M. (1969/ 63) vermuten lassen.

Hypervitaminose D

Ende der Zwanziger-Jahre wurde erstmals über die Toxizität hoher Dosen von Vitamin D berichtet. Als Versuchstier zur Erforschung der Vitamin-D-Vergiftung wurde meist das Kaninchen verwandt. So beschrieb SCHMIDTMANN (1929/ 135) das Auftreten von Knochenerweichung beim Kaninchen nach längerer Verabreichung hoher Dosen von Ergosterin. SCHIFF (1930/ 134) erzeugte gleichfalls beim Kaninchen experimentell eine Gefäßkalzinose durch Überdosierung von Vitamin D. ASHFORD beobachtete einen Anstieg der Blutspiegel von P und Ca, verbunden mit vermehrter Ausscheidung beider Mineralien, besonders des Ca, über den Urin (1930/ 4). Nach VARELA u. M. (1930/ 151) gingen Ratten und Kaninchen nach 20 bis 30 Tagen ein, wenn sie täglich 3 bis 5 mg bestrahltes Ergosterin erhalten hatten. Während dieser Zeit hatte sich in den großen Arterien eine akute Arteriosklerose entwickelt. HAM u. M. (1934/ 53) beobachteten in den Röhrenknochen junger Ratten, die täglich sehr große Vitamin-D-Dosen erhielten, nach drei Wochen rachitische Läsionen. Die in dieser Zeit gebildete Matrix war schwach kalzifiziert. Die Autoren schlossen daraus, daß große Vitamin-D-Dosen den normalen Verkalkungsprozeß am Knochen zu hemmen in der Lage waren.

BLACKBURN u. M. (1957/ 7) beschrieben eine im Verlauf der Hypervitaminose D bei Kälbern auftretende Hyperkalzämie, die sich nach CaCO_3 -Beifütterung noch verstärkte; CaHPO_4 -Gaben senkten den Blut-Ca-Spiegel, erhöhten jedoch den Blut-P-Spiegel.

DÄMMRICH (1963/ 22) erzeugte experimentell bei Ferkeln eine D_3 -Hypervitaminose, die sich durch Verkalkungen in Lunge, Herz, Nieren und Magen sowie den dazugehörigen Gefäßen äußerte. Am Skelett sah er zwei Formen von Veränderungen: Zu Beginn herrschte osteoklastischer Knochenabbau vor, später eine vermehrte Bildung kalklos bleibenden Knochengewebes.

Mehrere Autoren berichteten über Gefäßkalzinosen, die sie bei verschiedenen Versuchstierarten durch Dihydratysterin (DHT) ausgelöst hatten. Mit der Kalzinose war auch ein Anstieg des Blut-Ca-Spiegels verbunden (GILLMANN u. M., 1960/ 49; REMAGEN u. M., 1965/ 127; TUCHWEBER u. M., 1967/ 148).

EISENSTEIN u. M. (1964/ 41) induzierten innerhalb von vier Wochen Verkalkungen in der Aorta von Kaninchen, denen zweimal pro Woche 100 000 IE Vitamin D verabreicht worden waren.

CAPEN u. M. (1966/ 14) untersuchten die Pathologie der Hypervitaminose D beim Rind. Die experimentelle Auslösung gelang ihnen durch tägliche Applikation von 30 Millionen U.S.P.-Einheiten Vitamin D über unterschiedlich lange Zeit. Nach 10 Tagen wurde erstmals eine Mineralisation im kardiovaskulären System gesehen; nach 21 Tagen war sie stark ausgedehnt. Die Endothelzellen des Herzens waren hyperplastisch und hatten sich von zwei Zellreihen auf vier vermehrt. Vor allem am linken Herzen wurde eine subendokardiale Mineralisation beobachtet. Die Mineralisation der Arterien, die vor allem Arterien des elastischen Typs betraf, war proximal am stärksten und verminderte sich nach distal. Die Venen waren weniger schwer verändert als die Arterien. Die Mineralablagerungen bestanden aus Karbonat-Hydroxyapatit, das kristallochemisch dem des Knochens glich. Die Knochen erschienen den Autoren beim Schneiden extrem hart.

Nach LINDT (1968/ 93) beginnen die Kalkablagerungen bei der D-Hypervitaminose in den "calcinophilen" Geweben, i.e. die elastischen Membranen und die Basalmembranen. Mit abnehmender Empfindlichkeit erkrankten demzufolge Niere, Aorta, Herz, Magen, Lunge, periphere Arterien, periphere Muskulatur, innersekretorische Drüsen und periphere Venen. Die initialen Läsionen seien fein und staubförmig; mit fortschreitender Dauer der Erkrankung würden sie grö-

Ser und brockig und breiteten sich progressiv ins umliegende Gewebe aus. Am empfindlichsten reagierte die Maus, es folgten Kaninchen, Katze, Ratte, Meerschweinchen, Hund, Schwein und Kuh.

KOEYLINSKI untersuchte die Frage, ob die Hyperkalzämie als kausaler Faktor der bei der D-Hypervitaminose auftretenden Gewebeschädigungen eine Rolle spielt (1971/76). Er kam zu dem Ergebnis, daß dies nicht der Fall sei. Vielmehr müsse die toxische Wirkung des Vitamin D auf eine vitamin-induzierte Lipidperoxydation und die damit zusammenhängende Schädigung der lipoproteidhaltigen zellulären Membranen zurückgeführt werden.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Material und Methodik

Versuchstiere

Die verwendeten Versuchskaninchen waren sieben Wurfgeschwister der Rasse "Graue Chinchillas". Sie waren zu Beginn der Solanum-Versuche sieben Monate, am Ende zwölf Monate alt. Zu Beginn der Goldhafer-Versuche, die vier Monate dauerten, betrug ihr Alter 13 Monate. Die Verteilung auf die Geschlechter und das Gewicht der Kaninchen bei der Einstellung waren folgendermaßen:

Tier-Nr.	1	2	3	4	5	6	7
Geschlecht	w	m	w	m	w	m	w
Gewicht (g)	2735	3065	3065	3015	3050	2995	3330

Die Tiere wurden in Drahtkäfigen ohne Einstreu unter Dach gehalten. Die Raumtemperatur schwankte je nach Witterung zwischen $+10^{\circ}\text{C}$ und $+25^{\circ}\text{C}$. Die Fütterung erfolgte einmal täglich am Vormittag.

Während der ersten Versuchsreihe (Solanum-Versuche) bestand die Fütterung aus Wasser ad libitum, goldhaferfreiem Heu ad libitum (Verzehr täglich 150 g - 200 g) und 70 g Weizen. Das Heu stammte aus einem Betrieb in der Nähe Münchens. Es war Grummet mit mittlerem Stengelanteil, wenig verfärbt, etwas hart, von gutem Geruch und mittlerem Verunreinigungsgrad. Während der zweiten Versuchsperiode (Goldhaferversuche) wurden an den Trisetumfreien Tagen wiederum Wasser und goldhaferfreies Heu ad libitum gefüttert. Es wurde darauf geachtet, daß das Kontroll-Heu qualitativ dem Goldhaferheu ebenbürtig war. Die Gräser befanden sich beim Schnitt vor dem Rispschieben im ersten Aufwuchs. Das Heu war zwar etwas verfärbt, aber weich und blattreich, mit gutem Geruch und ohne nennenswerte Verunreinigungen.

Herkunft und Behandlung des Pflanzenmaterials

Bei den Solanum-malacoxylon-Proben handelte es sich um getrocknete, pulverisierte Blätter. Das Material stammte aus Brasilien. Das Goldhaferheu entstammte einer Monokultur des Lehr- und Versuchsgutes Oberschleißheim des Fachbereichs Tiermedizin der Universität München. Es wurde am 11. Mai 1977 gemäht und zunächst 30 Stunden im Freien angewelkt. Nach 24 Stunden war es gewendet worden. Die weitere Trocknung erfolgte unter Dach auf einer weiten Fläche in dünner Lage. Die Qualität des Heus war vorzüglich: Vor dem Rispen-schieben geworben, war es sehr weich und blattreich, wenig verfärbt, gut riechend und ohne Verunreinigungen. Eine Nährstoffanalyse des Tiergesundheitsdienstes Bayern, e. V., Grub, ergab folgende Mineralstoffgehalte je kg Trockensubstanz:

Na	K	Ca	P	Mg	Cu	Mn	Zn
		g				mg	
0,06	41,7	9,0	4,3	1,7	8,9	28,1	48,5

Die Erhitzung des Pflanzenmaterials erfolgte in einem Trockensterilisator. Die Einwirkungsdauer der Temperatur betrug eine Stunde. Es wurden nur solche Proben verwandt, bei denen ab der fünften Minute die Temperatur mit einer Genauigkeit von $\pm 1^{\circ}\text{C}$ konstant war. Das auf einer Analysenwaage abgewogene Solanumpulver wurde in handelsüblicher Haushaltsaluminiumfolie verpackt und auf einer im Sterilisator stehenden Blechbüchse deponiert.

Zur Erhitzung des Goldhafers wurde ein Drahtbehälter gebaut, der verhindern sollte, daß das Heu direkt mit der Wand des Sterilisators in Berührung kam und verkohlte. Bei lockerer Füllung des Behälters konnten 120 g Heu auf einmal erhitzt werden.

Blutentnahme

Das Blut wurde an den Entnahmetagen jeweils vor der Fütterung zwischen 10 Uhr und 11 Uhr gewonnen. Die Blutentnahme erfolgte nach Wägung der Kaninchen durch Punktion der Ohrrendvene. Zu diesem Zweck wurden sie aus dem Käfig genommen und in dem von WOLF (174) beschriebenen Zwangskasten fixiert. Nach Entfernen der Haare am Ohr- rand wurde mit der flachen Hand mehrmals auf das Ohr geschlagen, so daß sich die Vene füllte und deutlich hervortrat. Die Punktion erfolgte nach Reinigung mit einem Alkoholtupfer unter Verwendung einer Rekordkanüle der Stärke 1. Das langsam abtropfende Blut wurde in einem mit Heparin (Vetren^R) bestäubten Eppendorf-Reaktionsgefäß (Nr. 3810) gesammelt. Auf diese Weise wurden innerhalb von drei bis fünf Minuten 1 bis 1,5 ml Blut gewonnen. Nach Schwenken des Gefäßes hielt sich das Blut mindestens eine Stunde, ohne daß das Plasma hämolytisch zu werden drohte. Die Punktionsstelle wurde mit einem Zellstofftupfer komprimiert und war im allgemeinen nach einer Minute wieder verschlossen. Die Zentrifugation erfolgte zwei Minuten lang in einer Eppendorf-Zentrifuge bei 3200 Umdrehungen pro Minute. Das Plasma wurde bis zur Verarbeitung aufbewahrt.

Bestimmungsmethoden für die untersuchten Blutparameter

Zum Hauptkriterium für Aussagen über die kalzinogene Aktivität der getesteten Substanzen wurde deren Einfluß auf die Höhe des Blutplasmaspiegels des anorganischen Phosphats bei den Versuchskaninchen, nachdem sich diese Methode sowohl für *Solanum malacoxylon* als auch für *Trisetum flavescens* mehrfach bewährt hatte (71; 102; 174). Hierzu ergänzend ist jeweils der Ca-Gehalt des Plasmas untersucht worden.

Die Phosphorbestimmung erfolgte in der Regel nach zwei bis vierzehn Tagen, je nachdem, wie viele Blutproben im Rahmen

eines Versuchs zu untersuchen waren. Die Kalziumbestimmung wurde aus technischen Gründen an etwa hundert Proben gleichzeitig vorgenommen, so daß die Proben bis zu drei Monate eingefroren aufbewahrt wurden.

Der Gehalt des anorganischen Phosphats im Plasma wurde mittels der Biochemica-Test-Combination, Best.-Nr. 15620, der Fa. Boehringer Mannheim nach den Angaben des Herstellers durchgeführt. Das Plasma wurde hierbei nach Enteiweißung mit Trichloressigsäure, 1,2 N (Best.-Nr. 15844), zu gleichen Teilen mit einem Gemisch von 21 mM Ammoniumvanadat und 40 mM Ammoniummolybdat (Verhältnis 1:1) versetzt, gemischt, und nach einer gewissen Zeit die Extinktion der Probe gegen den Leerwert photometrisch bei 405 nm bestimmt. Zu Beginn jeder Bestimmung und nach jeweils sieben Proben wurde eine Qualitätskontrolle der Untersuchung anhand eines Standard-Serum-Präparates (Precinorm^R S, Fa. Boehringer Mannheim) durchgeführt. Die von den Herstellern angegebene Toleranzbreite (4,94 mg/100 ml bis 6,04 mg/100 ml) wurde in keinem Fall über- oder unterschritten. Der Extinktionswert der Kontrolle lag in den meisten Fällen zwischen 5,10 mg/100 ml und 5,25 mg/100 ml; der Sollwert liegt bei 5,49 mg/100 ml. Um den Bestimmungsfehler möglichst gering zu halten, wurden die Proben einer Versuchsreihe in der Regel auf einmal untersucht.

Die Konzentration des Kalzium im Plasma wurde flammenphotometrisch mit dem Eppendorf-Flammenphotometer nach den Angaben des Herstellers bestimmt. Hier erfolgte nach jeweils zehn Proben eine Qualitätskontrolle der Methodik mit Hilfe von Precinorm^R S. Der Sollwert von 10 mg/100 ml wurde meistens eingehalten. Nach zehn Proben wurde auch die Genauigkeit des Photometers überprüft und gegebenenfalls das Gerät neu geeicht. Eine geringe Justierung war des öfteren vonnöten.

Versuchsanordnung

Es wurde eine Reihe von Versuchen an Kaninchen mit Verfütterung von unterschiedlich erhitztem Solanum malacoxylon und Trisetum flavescens durchgeführt. Die bei den einzelnen Versuchen angewandte Technik, insbesondere die Temperatur, der das verfütterte Pflanzenmaterial jeweils ausgesetzt war, ist des besseren Verständnisses wegen bei den jeweiligen Versuchen aufgeführt.

Ergebnisse

Untersuchungen über die Hitzestabilität des kalzinogenen Wirkstoffes in Solanum malacoxylon

Feststellung der normalen Tagesschwankungen des Ca- und des P-Spiegels der Kaninchen

Bei den Kaninchen 2 bis 7 wurde unter Beibehaltung der normalen Fütterung der Plasma-Spiegel von Ca und P im Abstand von 24 Stunden kontrolliert. In der folgenden Tabelle sind die Plasma-Ca-Spiegel der Tage 1 und 2 ("Ca₁" bzw. "Ca₂"), die Plasma-P-Spiegel der Tage 1 und 2 ("P₁" bzw. "P₂") sowie die "P-Differenzen" (P₂ - P₁) notiert.

Kan.	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
	mg/100 ml				
2	13,3	13,6	3,04	2,89	-0,15
3	13,3	12,8	3,07	2,97	-0,10
4	12,4	12,9	2,92	3,12	0,20
5	12,8	13,1	3,38	3,47	0,09
6	13,3	13,0	3,20	3,36	0,16
7	13,1	13,2	3,50	3,30	-0,20

Die Tagesschwankungen der Plasma-Ca-Spiegel betrugen $\pm 0,5$ mg/100 ml, die der Plasma-P-Spiegel $\pm 0,2$ mg/100 ml.

Bestimmung des Verlaufs des Plasma-P-Spiegels nach oraler Applikation einer Suspension von nichterhitztem SM zur Festlegung des optimalen Blutentnahme-Zeitpunktes

Kaninchen 4 erhielt am Tag 2 eine Stunde nach Blutentnahme und Fütterung oral eine wäßrige Suspension von 250 mg getrockneter und zerriebener Blätter von Solanum malacoxylon via Knopfkanüle. Kaninchen 2 blieb unbehandelt und diente als Kontrolle. Der Verlauf der Plasma-P-Spiegel beider Kaninchen ist der nachfolgenden Tabelle zu entnehmen.

Zeitpunkt der Blutentnahme	P (mg/100 ml) Kaninchen 2	P (mg/100 ml) Kaninchen 4
Tag 1, 9h	3,19	3,14
Tag 2, 9h	3,32	3,07 anschl. SM-Appl.
Tag 2, 14h	3,22	3,76
Tag 2, 18h	3,17	5,61
Tag 3, 2h 30'	3,33	6,70
Tag 3, 7h 30'	3,34	6,51
Tag 4, 9h	3,29	6,57

Sämtliche Werte des Plasma-P-Spiegels des Kontrollkaninchens 2 bewegten sich in einem Rahmen von 3,17 mg/100 ml bis 3,34 mg/100 ml und waren somit relativ konstant.

Die beiden "Null-Werte" des Kaninchens 4 an den Tagen 1 und 2 differierten nur minimal (0,07 mg/100 ml). Vier Stunden nach der Applikation von SM war der P-Spiegel um 0,69 mg/100 ml gestiegen, nach acht Stunden bereits um 2,54 mg/100 ml. Der Maximalanstieg von 3,63 mg/100 ml war nach 16 1/2 Stunden erreicht. Ein ähnlich hoher Wert war auch nach 21 1/2 Stunden (Anstieg des P-Spiegels um 3,44 mg/100 ml) und selbst nach 47 Stunden (P-Anstieg um 3,50 mg/100 ml) noch vorhanden.

Dies Resultat ließ es als günstig und ausreichend erachten, wenn bei den künftigen Versuchen zur Feststellung der P-Wert-Erhöhung eine einmalige Blutentnahme 20 Stunden nach der SM-Applikation stattfindet.

Die geringe Differenz der Nullproben stimmt überein mit den Ergebnissen weiterer Untersuchungen. So hatte Kaninchen 5 an sieben aufeinander folgenden Tagen die Plasma-P-Werte (in mg/100 ml)

3,43 - 3,53 - 3,24 - 3,42 - 3,73 - 3,60 - 3,25 .

Kaninchen 6 hatte an drei Tagen nacheinander die Werte 3,35 - 3,27 - 3,59 . Die Maximaldifferenz betrug also im ersten Fall 0,49 mg/100 ml, im zweiten Fall 0,32 mg/100 ml. Deshalb wurde bei den folgenden Versuchen zur Schonung

der Kaninchen, insbesondere ihrer Venen, nur eine Nullprobe, und zwar vier Stunden vor der SM-Applikation entnommen. Auf diese Weise ließ sich ein 24-Stunden-Rhythmus bei der Blutentnahme einhalten. Desgleichen erschien eine weitere Blutprobe 44 Stunden nach der SM-Applikation als überflüssig, da der P-Wert wohl kaum wesentlich von dem nach 20 Stunden abweichen würde und keine weiteren Hinweise brächte.

Erprobung einer anderen Darreichungsform (SM-Pulver in Gelatinekapseln) sowie verschiedener Dosierungen

Die Verwendung einer wäßrigen Suspension von getrockneten und zerriebenen Solanum-Blättern und deren Applikation mittels Maul- oder Nasen-Schlund-Sonde erwies sich aus zwei Gründen als unpraktisch: Erstens führte sie zu einer starken Exzitation des Versuchstiers, und zweitens blieb ein Restbelag des suspendierten Materials in der Spritze zurück. Da CAMBEROS u. M. festgestellt hatten, daß beim Meerschweinchen zwischen der Wirkung getrockneter SM-Blätter und der eines wäßrigen Extraktes aus getrockneten SM-Blättern nur geringe Unterschiede bestehen (13), wurde überprüft, ob sich die Verabfolgung der lediglich getrockneten und pulverisierten Solanum-Blätter in Gelatinekapseln für das Kaninchen eignet.

Um die Kaninchen nicht unnötig mit Giftstoffen zu belasten, wurde außerdem untersucht, ob es auch bei Verwendung niedrigerer Dosen zu einer deutlichen Steigerung des P-Spiegels der Kaninchen nach SM-Applikation kommt.

Kaninchen 99 (orne nicht aufgeführt, da es sich bei der Blutentnahme verletzt hatte und bei den späteren Versuchen nicht mehr verwendet wurde) erhielt 110 mg, Kaninchen 6 50 mg und Kaninchen 1 10 mg Solanum-Pulver, das jeweils in Gelatinekapseln (Capsulae operculatae^R) abgefüllt worden war. Die Kaninchen 3 und 5 blieben unbehandelt und dienten als Kontrolltiere. Die Gelatinekapseln wurden in Paraf-

finöl getaucht und mit einer gebogenen Kornzange dem jeweiligen Kaninchen in den Rachen geschoben. Die Tiere fingen daraufhin an zu kauen und schluckten die Kapsel und den Inhalt, der ihnen offensichtlich schmeckte, ab. Anschließend gereichtes Kraftfutter wurde gerne aufgenommen. Somit war gewährleistet, daß das ganze Solanum-Pulver von den Tieren verzehrt worden war. In den folgenden Versuchen verhielten sich die Kaninchen 2 bis 7 so wie hier beschrieben. Lediglich bei Kaninchen 1 trat ein Lerneffekt ein. Es spuckte die Kapsel bei späteren Versuchen wiederholt aus, weshalb es bei den nachfolgend aufgeführten SM-Versuchen nicht mehr herangezogen wurde.

Aus der folgenden Tabelle sind die Plasma-P-Spiegel der Versuchstiere zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme (P_1) und nach 24 Stunden (P_2) sowie die Differenzen beider Werte zu entnehmen.

Kan.	P_1	P_2	P-Diff.
	mg/100 ml		
99	3,66	7,25	3,59
6	3,59	8,86	5,27
2	3,04	5,34	2,30
1	3,35	3,54	0,19
3	3,41	3,12	-0,29
5	3,54	3,82	0,28

Solanum-malacoxylon-Pulver, in Gelatinekapseln appliziert, führt bei entsprechender Dosierung zu einer Erhöhung des Plasma-P-Spiegels. Somit hat sich die Verwendung dieser Kapseln als geeignet erwiesen.

110 mg, 100 mg und 50 mg getrockneter und zerriebener SM-Blätter haben eine deutliche Erhöhung des Plasma-P-Spiegels bewirkt. Auch bei einem späteren Versuch war nach Applikation von 50 mg getrockneter SM-Blätter mit 2,58 mg/100 ml eine deutliche Steigerung des P-Spiegels eingetreten. Bei der Dosis von 10 mg war keine Wirkung mehr zu erkennen.

Um einerseits eine sichere Wirkung zu erzielen, andererseits die Aufnahme des Gifts durch die Kaninchen möglichst gering zu halten, wurde für die weiteren Versuche die Dosis von 50 mg SM-Pulver gewählt, unabhängig von den Gewichtsunterschieden der Kaninchen. Sieht man von Kaninchen 6 ab, so lag bei allen Versuchen mit Verfütterung von Solanum malacoxylon die Spannweite des Körpergewichts der Kaninchen zwischen 3675 g und 4090 g. Dies entspricht im ersten Fall einer Dosierung von 13,6 mg/kg KGW, im zweiten Fall von 12,2 mg/kg KGW; die Dosierung bei 3675 g betrug also 110% der Dosierung des Kaninchens mit 4090 g. Das Körpergewicht von Kaninchen 6 schwankte zwischen 3315 g und 3380 g, womit im leichteren Fall 15,1 mg/kg KGW zur Applikation kamen. In diesem Fall wurden 120% der Dosis des Tieres mit 4090 g verabreicht. Somit wurde die Dosierung mit einer Genauigkeit von 20% vorgenommen, was als ausreichend erachtet werden konnte. Eine genauere Beziehung auf das Körpergewicht der Tiere schien aus wägetechnischen Gründen schwierig und ist auch bei anderen Autoren nicht vorgenommen worden (5; 100).

Bestimmung der Blutspiegel von Ca und P über 14 Tage nach Verabreichung von nichterhitztem Solanum-Pulver

Dieser Versuch diente der Feststellung, wann ein Tier wieder zum Versuch verwandt werden kann. Desgleichen sollte geprüft werden, ob die Blutspiegel beider Parameter auch noch längere Zeit nach der SM-Applikation größeren Veränderungen unterworfen sind. Zu diesem Zweck erhielt Kaninchen 7 am Tag 1 50 mg Solanum-Pulver, das keiner Erhitzung ausgesetzt war. Den Verlauf der Blutwerte von Ca und P gibt die folgende Tabelle wieder:

Tag	1	2	3	4	5	6	7
Ca (mg/100 ml)	13,6	13,5	13,7	12,6	13,4	13,1	13,8
P (mg/100 ml)	3,95	6,00	4,49	4,79	4,11	4,11	3,74

Tag	8	9	10	11	12	13	14
Ca (mg/100 ml)	13,7	13,2	13,6	12,8	13,7	13,5	12,2
P (mg/100 ml)	3,79	3,57	3,53	3,65	3,61	3,70	3,90

Der Ca-Spiegel schwankte zwischen 12,2 mg/100 ml und 13,8 mg/100 ml. Eine Abhängigkeit von der Solanum-malacoxylon-Applikation ist nicht erkennbar. Der P-Spiegel hatte am Tag 2 (also 20 Stunden nach der Verabreichung der Solanum-Kapsel) eine Steigerung um 2,05 mg/100 ml erfahren. Das Ausgangsniveau war am Tag 7 wieder erreicht. Im weiteren Verlauf der Tage 8 bis 14 bewegte sich der P-Spiegel in einem Schwankungsbereich von 0,37 mg/100 ml. Nach sieben Tagen kann also ein Kaninchen wieder zu einem Versuch verwandt werden. Diese Zeitspanne wurde bei den folgenden Versuchen nie unterschritten.

Orientierungsversuche zum Einfluß verschiedener Temperaturen auf die kalzinogene Aktivität von SM (bei 2 Kaninchen je Temperaturstufe)

Kaninchen 2 und Kaninchen 3 erhielten 50 mg Solanum-Pulver, das eine Stunde lang einer Temperatur von 250°C ausgesetzt war. Kaninchen 1 diente als Kontrolle. Das Verhalten der Plasma-P-Spiegel der Kaninchen ist der folgenden Tabelle zu entnehmen:

Kan.	P ₁ (mg/100 ml)	P ₂ (mg/100 ml)
1	3,54	3,71
2	3,11	3,41
3	3,24	3,51

Die Anstiege des Phosphor-Spiegels 20 Stunden nach der SM-Applikation waren geringfügig und lagen im Bereich der Tagesschwankungen. Nach Erhitzung auf 250°C ist somit die kalzinogene Substanz in Solanum malacoxylon zerstört. Im übrigen war das SM-Pulver nach der Entnahme aus dem Sterilisator verkohlt, weshalb auch keine Aktivität erwartet werden konnte.

In den vier folgenden Versuchen erhielten jeweils fünf Kaninchen 50 mg unterschiedlich erhitztes SM-Pulver. Die Einwirkungsdauer der Temperatur betrug in jedem Falle eine Stunde. Bei jedem Versuch dienten ein oder zwei Kaninchen als Kontrollen. Aus den folgenden Tabellen (Tab. 1-4) geht hervor, welches Kaninchen wie stark erhitztes Solanum-Pulver erhielt und wie jeweils die Ca- und P-Blutspiegel der Kaninchen auf die Verfütterung der Droge reagierten.

Tab. 1

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen, die oral 50 mg unterschiedlich erhitztes SM-Pulver erhalten hatten.

Kan.	Erhitzungstemp. von SM (in °C)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
6	190	13,2	13,5	3,41	3,53	0,12
5	180	13,8	13,5	3,66	3,65	-0,01
4	170	13,9	13,6	3,39	3,68	0,29
3	160	13,5	13,6	3,29	4,53	1,24
2	150	13,5	13,5	3,29	5,11	1,82
7	140	13,2	13,4	3,56	5,47	1,91
1	Kontrolle	13,4	13,6	3,76	3,52	-0,24

Tab. 2

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen, die oral 50 mg unterschiedlich erhitztes SM-Pulver erhalten hatten.

Kan.	Erhitzungstemp. von SM (in °C)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
6	140	14,6	14,4	3,24	5,37	2,13
5	130	13,6	14,3	3,50	6,88	3,38
4	120	12,7	13,5	3,17	6,60	3,43
3	110	13,3	13,5	3,02	5,41	2,39
2	100	14,2	13,5	3,39	5,53	2,04
1	Kontrolle	13,4	13,2	3,50	3,59	0,09
7	Kontrolle	13,9	13,1	3,50	3,78	0,28

Tab. 3

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen, die oral 50 mg unterschiedlich erhitztes SM-Pulver erhalten hatten.

Kan.	Erhitzungstemp. von SM (in °C)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
5	190	13,4	12,3	3,64	3,42	-0,22
4	180	12,8	12,8	3,30	3,03	-0,27
3	170	13,6	13,3	2,90	3,27	0,37
2	160	13,3	13,5	2,90	4,01	1,11
6	150	13,0	13,3	3,40	5,11	1,71
1	Kontrolle	12,5	13,1	3,62	3,42	-0,20
7	Kontrolle	12,9	13,2	3,52	3,81	0,29

Tab. 4

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen, die oral 50 mg unterschiedlich erhitztes SM-Pulver erhalten hatten.

Kan.	Erhitzungstemp. von SM (in °C)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
5	140	13,3	13,8	3,30	5,29	1,99
4	130	13,0	13,0	3,03	5,26	2,23
3	120	12,6	12,8	3,21	5,81	2,60
2	110	14,0	13,7	3,45	5,51	2,06
6	100	12,8	12,6	3,44	5,37	1,93
1	Kontrolle	13,7	13,7	3,54	3,62	0,08
7	Kontrolle	13,1	13,4	3,41	3,17	-0,24

Eine Beeinflussung des Ca-Spiegels durch SM läßt sich aus den Werten der Tabellen 1 bis 4 nicht ablesen. Der P-Spiegel hingegen erfährt 20 Stunden nach Verabreichung von SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 100°C bis 160°C ausgesetzt war, eine deutliche Steigerung. Nach Erhitzung auf 170°C ist eine Beeinflussung zweifelhaft, nach Erhitzung auf 180°C und 190°C nicht mehr erkennbar.

Die in den Orientierungsversuchen erkennbare Tendenz soll durch Ergebnisse an einer größeren Tierzahl bestätigt werden.

Versuche zur Bestätigung der Ergebnisse der Orientierungsversuche bezüglich des Einflusses verschiedener Temperaturen auf die kalzinogene Aktivität von SM (bei 6 Kaninchen je Temperaturstufe)

Aus den bisherigen Versuchen wurde ersichtlich, daß sich die Tagesschwankungen der Plasma-P-Spiegel der Kaninchen in einem relativ begrenzten Rahmen hielten. Ein Vergleich mit den bisher registrierten Nullwerten konnte zudem für jedes Kaninchen zeigen, ob der Plasma-P-Spiegel zu Beginn eines neuen Versuchs jeweils einen für dieses Tier typischen Wert aufwies. Die Verwendung eines Kontrolltiers erschien somit nicht unbedingt als nötig, weshalb bei den folgenden Versuchen darauf verzichtet wurde. Dies ermöglichte die Prüfung der Thermolabilität des aktiven Prinzips von SM an einer größtmöglichen Anzahl von Kaninchen. Da die Plasma-Ca-Spiegel in den bisherigen Versuchen keine Abhängigkeit von SM erkennen ließen, schieden sie als Kriterium für die Frage der Notwendigkeit der Verwendung von Kontrolltieren aus.

In jedem der folgenden Versuche erhielten die Kaninchen 2 bis 7 je eine Kapsel mit 50 mg getrockneter und zerriebener Solanum-Blätter. Das Solanum-Pulver war vorher eine Stunde lang erhitzt worden, wobei innerhalb jedes Versuchs nur SM-Pulver einer Erhitzungsstufe verfüttert wurde. Aus den folgenden Tabellen gehen die Ca- und P-Blut-Spiegel der Kaninchen zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme (Nullwert) und zum Zeitpunkt der zweiten Blutentnahme (24 Stunden später, also 20 Stunden nach der SM-Gabe) sowie die Differenz der beiden P-Werte hervor. Außerdem wurde jeweils das Gewicht der Kaninchen notiert.

Tab. 5

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 100°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3900	13,3	13,6	3,13	4,99	1,86
3	3965	13,7	13,6	2,96	5,54	2,58
4	3780	13,9	13,8	3,09	5,45	2,36
5	3700	12,9	13,5	3,34	6,35	3,01
6	3370	13,9	14,2	3,48	5,34	1,86
7	4010	13,4	13,3	3,68	6,27	2,59

Die Blut-Ca-Spiegel erfuhren bei den Kaninchen 2, 5 und 6 eine Steigerung, bei den Kaninchen 3, 4 und 7 einen Abfall. Der Blut-P-Spiegel war 20 Stunden nach der SM-Applikation bei allen Kaninchen erhöht, und zwar betrug die Differenz der beiden Plasma-P-Werte P₂ minus P₁ ("P-Differenz") im höchsten Fall ("Maximaldifferenz") 3,01 mg/100 ml, im niedrigsten Fall ("Minimaldifferenz") 1,86 mg/100 ml. Somit liegen alle Werte im Bereich einer Spannweite von 1,15 mg/100 ml (= Maximaldifferenz minus Minimaldifferenz). Der Mittelwert der P-Differenzen dieser 6 Kaninchen ergibt einen Betrag von 2,38 mg/100 ml.

Tab. 6

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 110°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3805	13,9	13,6	2,92	5,76	2,84
3	3915	12,9	13,0	3,02	5,40	2,38
4	3770	13,7	13,0	2,87	5,42	2,55
5	3720	13,4	13,7	3,57	5,15	1,58
6	3350	12,7	12,9	3,27	6,11	2,84
7	4005	13,4	13,7	3,63	6,04	2,41

Bei den Blut-Ca-Spiegeln der Kaninchen 3, 5, 6 und 7 war eine Steigerung, bei den Kaninchen 2 und 4 ein Abfall des Wertes zu verzeichnen. Der Blut-P-Spiegel war bei allen Kaninchen angestiegen. Bei einer Maximaldifferenz von 2,84 mg/100 ml und einer Minimaldifferenz von 1,58 mg/100 ml betrug die Spannweite 1,26 mg/100 ml. Die 6 P-Differenzen ergaben einen Mittelwert von 2,43 mg/100 ml.

Tab. 7

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 120°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3810	13,6	13,8	3,12	5,63	2,51
3	3960	13,9	13,4	3,16	5,59	2,43
4	3675	13,7	13,3	3,07	6,15	3,08
5	3740	13,1	13,3	3,67	5,40	1,73
6	3315	13,2	13,4	3,42	6,11	2,69
7	3980	13,3	13,2	3,52	6,69	3,17

Der Ca-Spiegel hatte sich bei den Kaninchen 2, 5 und 6 20 Stunden nach der Solanum-Gabe erhöht, bei den Kaninchen 3, 4 und 7 erniedrigt. Der P-Spiegel war bei allen Tieren angestiegen. Die mittlere P-Differenz betrug 2,60 mg/100 ml. 1,73 mg/100 ml als Minimal- und 3,17 mg/100 ml als Maximaldifferenz bedingten eine Spannweite von 1,44 mg/100 ml.

Tab. 8

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 130°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3835	13,8	13,5	3,07	5,04	1,97
3	4025	13,7	14,1	3,22	4,86	1,64
4	3710	13,3	13,6	3,11	5,84	2,73
5	3710	13,4	13,8	3,49	6,64	3,15
6	3350	13,6	13,5	3,52	6,04	2,52
7	4010	13,0	13,4	3,44	5,58	2,14

Die Ca-Spiegel der Kaninchen 3, 4, 5 und 7 hatten eine Steigerung, die der Kaninchen 2 und 6 einen Abfall erfahren. Der P-Spiegel hatte sich bei allen Tieren erhöht: Die Maximaldifferenz wies einen Betrag von 3,15 mg/100 ml, die Minimaldifferenz von 1,64 mg/100 ml auf. Somit betrug die Spannweite 1,51 mg/100 ml; der Durchschnittswert der 6 P-Differenzen lag bei 2,36 mg/100 ml.

Tab. 9

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 140°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3815	13,7	13,9	2,77	5,17	2,40
3	4010	13,1	13,0	3,02	4,97	1,95
4	3730	13,4	13,9	2,94	5,46	2,52
5	3705	13,8	13,6	3,57	5,14	1,57
6	3335	13,1	12,9	3,57	4,90	1,33
7	4045	13,3	13,8	3,66	5,11	1,45

Bei den Kaninchen 2, 4 und 7 hatte sich der Ca-Spiegel erhöht, bei den Kaninchen 3, 5 und 6 erniedrigt. Die mittlere P-Differenz betrug 1,87 mg/100 ml, wobei die P-Spiegel aller Versuchstiere angestiegen waren; der höchste Wert war mit 2,52 mg/100 ml, der niedrigste mit 1,33 mg/100 ml zu verzeichnen. Die Spannweite erreichte einen Wert von 1,19 mg/100 ml.

Tab. 10

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 150°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3780	13,2	13,3	2,76	4,51	1,75
3	4085	13,6	13,9	3,05	4,72	1,67
4	3690	13,7	13,6	3,01	4,03	1,02
5	3720	13,0	13,3	3,58	5,33	1,75
6	3350	13,8	13,5	3,27	5,59	2,32
7	4035	13,2	13,3	3,49	4,84	1,35

Eine Steigerung der Ca-Spiegel war bei den Kaninchen 2, 3, 5 und 7 eingetreten, bei den Kaninchen 4 und 6 hingegen ein Abfall. Die P-Spiegel waren 20 Stunden nach der SM-Applikation in jedem Fall erhöht, und zwar im Durchschnitt um 1,64 mg/100 ml. Bei einer Spannweite von 1,30 mg/100 ml betrug der niedrigste Wert 1,02 mg/100 ml, der höchste Wert 2,32 mg/100 ml.

Tab. 11

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 160°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3830	13,6	13,2	2,83	3,93	1,10
3	3970	13,5	13,6	2,95	4,20	1,25
4	3725	13,2	13,3	2,98	4,28	1,30
5	3715	13,9	13,6	3,49	4,84	1,35
6	3340	13,5	13,8	3,33	4,70	1,27
7	4080	13,1	13,2	3,54	4,89	1,35

Eine Erhöhung der Ca-Spiegel war bei den Kaninchen 3, 4, 6 und 7, eine Erniedrigung bei den Kaninchen 2 und 5 zu registrieren. Alle P-Spiegel waren angestiegen: Die mittlere P-Differenz hatte einen Betrag von 1,27 mg/100 ml; bei einer Maximaldifferenz von 1,35 mg/100 ml und einer Minimaldifferenz von 1,10 mg/100 ml betrug die Spannweite 0,25 mg/100 ml.

Tab. 12

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 170°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3895	13,9	13,8	3,17	3,47	0,30
3	4050	13,5	13,7	2,93	3,61	0,68
4	3745	13,4	13,4	3,10	3,60	0,50
5	3845	13,1	13,2	3,31	4,07	0,76
6	3380	13,0	12,7	3,44	4,07	0,63
7	4020	13,7	13,5	3,44	4,17	0,73

Die Ca-Spiegel der Kaninchen 3 und 5 hatten sich erhöht, der Spiegel von Kaninchen 4 war gleich geblieben, und die Spiegel der Kaninchen 2, 6 und 7 waren gefallen. Die P-Spiegel aller Tiere waren angestiegen: Der Mittelwert der 6 P-Differenzen betrug 0,60 mg/100 ml bei einer Maximaldifferenz von 0,76 mg/100 ml und einer Minimaldifferenz von 0,30 mg/100 ml (Spannweite: 0,46 mg/100 ml).

Tab. 13

Verhalten der Blutspiegel von Ca und P bei Kaninchen nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 180°C ausgesetzt war.

Kan.	Gewicht (g)	Ca ₁	Ca ₂	P ₁	P ₂	P-Diff.
		mg/100 ml				
2	3890	13,9	13,6	2,93	2,68	-0,30
3	4090	13,5	13,8	3,07	3,15	0,08
4	3755	12,9	13,3	3,21	2,79	-0,42
5	3850	13,5	13,1	3,33	3,58	0,25
6	3355	13,3	13,4	3,27	3,39	0,12
7	3990	13,5	13,5	3,40	3,61	0,21

Die Kaninchen 3, 4 und 6 hatten 20 Stunden nach der SM-Applikation einen höheren, die Kaninchen 2 und 5 einen niedrigeren Ca-Spiegel als zu Versuchsbeginn. Der Ca-Spiegel von Kaninchen 7 war gleich geblieben. Die P-Spiegel der Kaninchen 2 und 4 waren abgefallen, die der Kaninchen 3, 4, 6 und 7 leicht angestiegen. Der niedrigste Wert war um 0,42 mg/100 ml abgefallen, der höchste um 0,25 mg/100 ml angestiegen. Somit lagen diese 6 Werte im Bereich einer Spannweite von 0,67 mg/100 ml und bedingten mit - 0,01 mg/100 ml für den Durchschnitt der P-Differenzen einen negativen Betrag.

P-Differenz
(mg/100 ml)

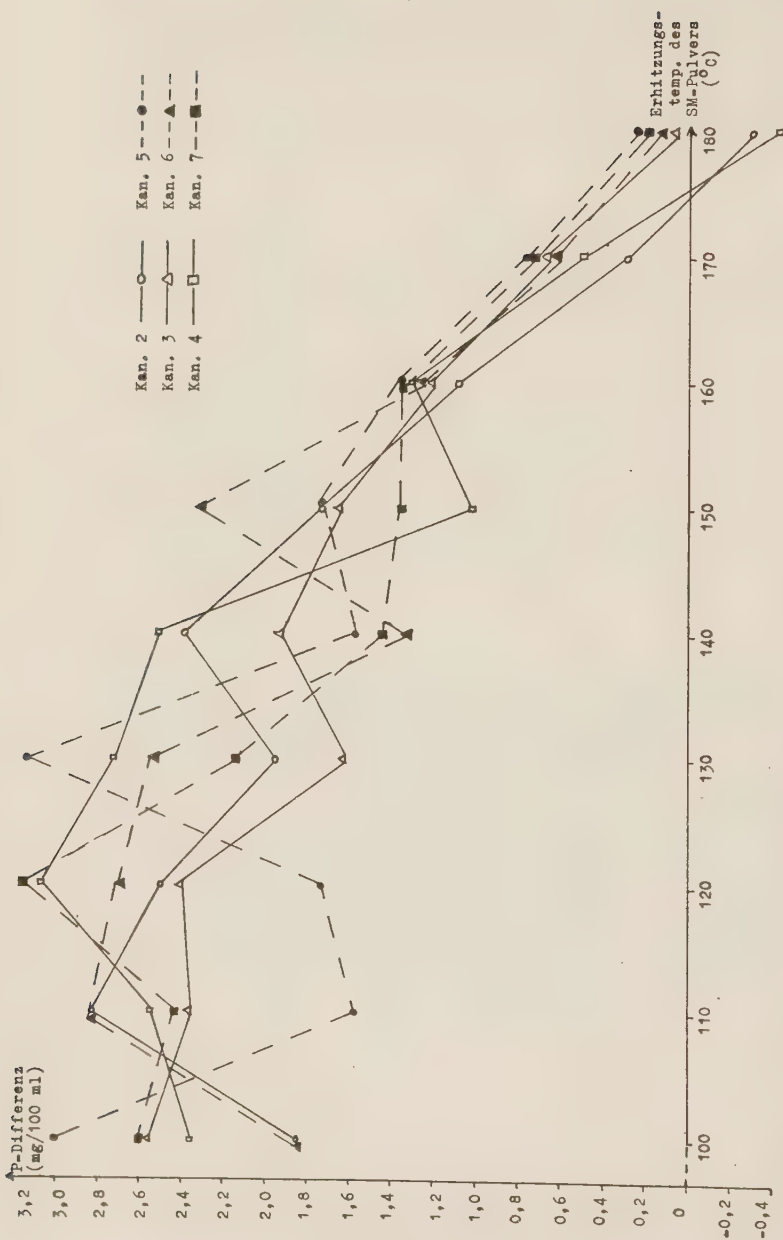


Abbildung 1: Verlauf der P-Differenzen bei den Kaninchen 2 - 7: Die P-Differenzen (-Anstieg des Plasma-Phosphor-Spiegels der Kaninchen im Vergleich zum Anfangswert) wurden jeweils 20 Stunden nach oraler Gabe von 50 mg SM-Pulver, das 1 Stunde bei den Temperaturen 100°C, 110°C, ..., 180°C erhitzt worden war, ermittelt.

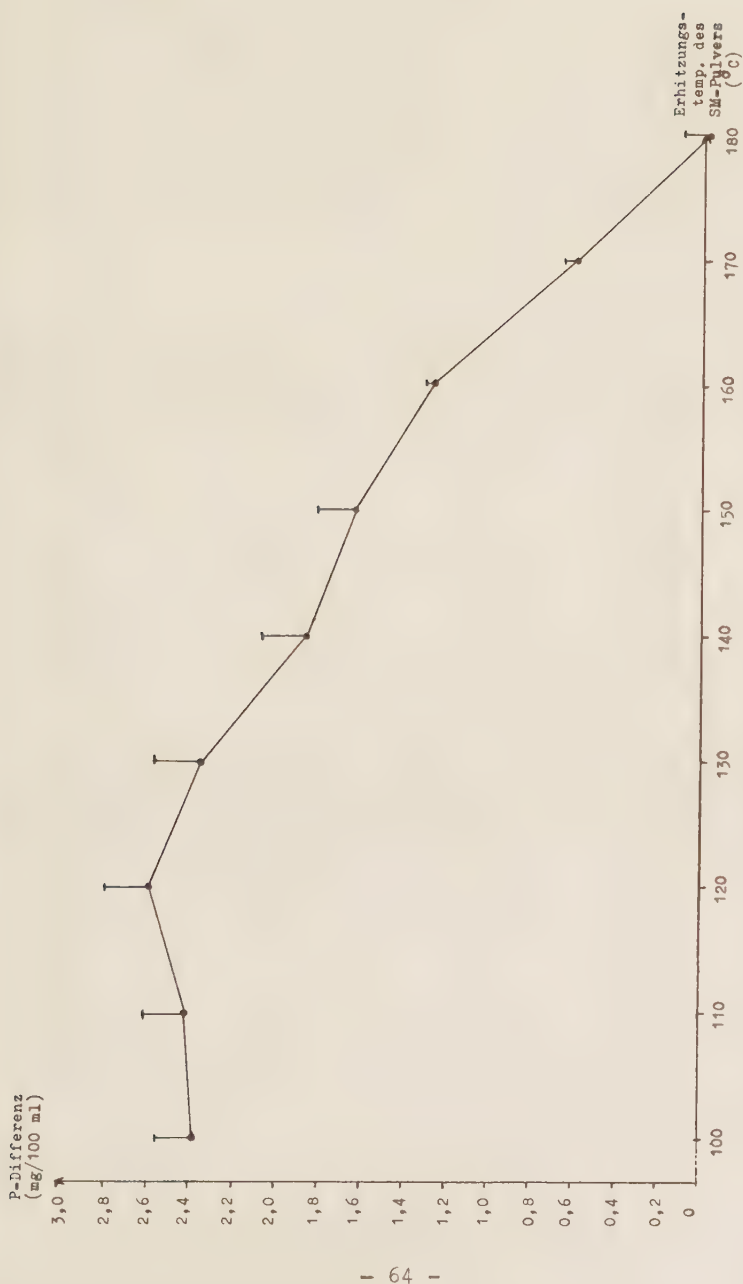


Abbildung 2: Verlauf und mittlere Abweichungen der Mittelwerte der P-Differenzen bei den Kaninchen 2 - 7:
Die P-Differenzen (=Anstieg des Plasma-Phosphor-Spiegels der Kaninchen im Vergleich zum Anfangswert) wurden jeweils 20 Stunden nach oraler Gabe von 50 mg SM-Pulver, das 1 Stunde bei den Temperaturen 100°C, 110°C, ..., 180°C erhitzt worden war, ermittelt.

Untersuchungen über die Hitzestabilität des kalzinogenen Wirkstoffes in Trisetum flavescens

Bestimmung des Verlaufs der Plasma-Spiegel von Ca und P bei Alleinfütterung von Kontrollheu an Kaninchen

Bei den Kaninchen 2 und 3 wurde acht Tage lang geprüft, ob das zur Kontrollfütterung vorgesehene Heu auch keine kalzinogene Aktivität besaß. Zwei Tage vor Versuchsbeginn war die Fütterung des Weizens abgebrochen worden. Aus den Tabellen 14 und 15 sind Verzehr und Gewichtsentwicklung der Kaninchen sowie der Verlauf ihrer Ca- und P-Blutspiegel zu entnehmen.

Tab. 14

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöchiger Alleinfütterung von Kontrollheu (Kan. 2)

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3910	---	13,4	2,72
2	3820	110	13,5	3,25
3	3755	90	13,4	3,21
4	3855	110	13,5	3,04
5	3800	150	13,3	3,22
6	3770	130	13,3	3,32
7	3750	130	13,4	3,10
8	3740	130	13,4	2,96

Tab. 15

Gewichtsentwicklung und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöchiger Alleinfütterung von 110 g Kontrollheu (Kan. 3)

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3880	---	13,2	3,23
2	3835	110	13,4	2,98
3	3805	110	13,1	3,19
4	3800	110	13,3	2,89
5	3790	110	13,3	3,23
6	3780	110	13,1	3,41
7	3780	110	13,3	3,34
8	3740	110	13,3	2,95

In den sieben Tagen der Kontrollheufütterung nahm Kaninchen 2 um 170 g, Kaninchen 3 um 140 g ab. Der durchschnittliche Verzehr betrug bei Kaninchen 2 120 g, bei Kaninchen 3 110 g. Der Blut-Ca-Spiegel blieb ziemlich konstant und schwankte in einem Rahmen von 0,2 mg/100 ml bzw. 0,3 mg/100 ml. Die P-Spiegel hatten eine Maximaldifferenz von 0,60 mg/100 ml bzw. 0,52 mg/100 ml, ohne indes die Tendenz zu einem P-Anstieg erkennbar werden zu lassen.

Mithin schien das Heu keine kalzinogene Aktivität zu besitzen und zur Kontrollfütterung geeignet zu sein.

Bestimmung der kalzinogenen Aktivität des zur Thermostabilitätsprüfung vorgesehenen Goldhaferheus

Kaninchen 6 erhielt nach einwöchiger Vorbereitungs-fütterung von Kontrollheu und Weizen sieben Tage lang Goldhaferheu als Alleinfutter. Anschließend wurde eine Woche lang Kontrollheu als Alleinfutter angeboten.

Während dieser 15-tägigen Fütterungsperiode wurden die Gewichtsentwicklung, der Verzehr und die Plasmaspiegel von Ca und P bestimmt, um zu erfahren, nach wieviel Tagen die kalzinogene Aktivität des Heus sicher beurteilt werden kann und wann die Blutspiegel ihr Ausgangsniveau wieder erreicht haben. Letzteres diente der Feststellung der nötigen Mindestzeit-spanne zwischen zwei Versuchen.

Siehe hierzu Tabelle 16!

Tab. 16

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu (Tage 1-8); anschließend Umstellung auf Kontrollheu (Tage 9-15). Kaninchen 6.

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3355	---	12,7	3,00
2	3305	90	13,0	2,96
3	3325	90	12,8	3,85
4	3295	115	14,0	4,10
5	3260	100	14,1	4,54
6	3225	140	13,8	4,90
7	3210	100	14,5	5,37
8	3200	115	14,9	5,96
9	3180	110	13,7	4,46
10	3165	105	13,1	4,00
11	3150	110	13,7	3,34
12	3150	115	13,6	3,30
13	3155	120	13,2	3,09
14	3110	110	13,1	3,05
15	3095	105	13,4	3,47

Der Gewichtsverlust von Kaninchen 6 betrug in der ersten Woche 155 g und in der zweiten Woche weitere 105 g. Der Ca-Spiegel zeigte einen Anstieg um 2,2 mg/100 ml und hatte fünf Tage nach der Futterumstellung sein Ausgangsniveau wieder erreicht. Der P-Spiegel stieg um 2,96 mg/100 ml an und war ebenfalls fünf Tage nach der Futterumstellung wieder auf seinem Ausgangsniveau.

Das Goldhaferheu zeigte also eindeutig eine kalzinogene Wirkung und war somit als Testheu geeignet. Die Dauer der Fütterungsversuche mußte mindestens sieben Tage betragen, die Zeitspanne, die einem Kaninchen zwischen zwei Versuchen zur Erholung der Plasmaspiegel von Ca und P gewährt werden mußte, mindestens fünf Tage. Im folgenden wurde den Kaninchen immer mindestens eine Woche Kontrollheu zwischen zwei Goldhaferversuchen gefüttert. Damit sie nicht zuviel an Gewicht verlören, wurde ihnen während dieser Zeit an den ersten fünf Tagen auch wieder die übliche Kraftfutterzulage erteilt.

Orientierungsversuche zur Ermittlung des Einflusses der Temperatur auf die kalzinogene Aktivität des getrockneten Goldhafers

Die Kaninchen 1, 3, 4, 5 und 7 erhielten eine Woche lang als Alleinfutter Goldhaferheu, das vorher einer einstündigen Erhitzung ausgesetzt war. Aus den Tabellen 17 bis 21 sind neben der Erhitzungstemperatur des Goldhafers Verzehr und Gewichtsentwicklung der Versuchstiere sowie der Verlauf ihrer Ca- und P-Blutspiegel zu entnehmen.

Tab. 17

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 100°C ausgesetzt war (Kaninchen 1).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3575	---	13,7	3,25
2	3570	90	13,6	3,79
3	3565	115	13,4	4,67
4	3560	125	14,2	5,08
5	3540	95	14,1	5,50
6	3520	120	13,9	5,25
7	3515	145	14,3	5,54
8	3505	115	13,9	5,79

Bei einem Durchschnittsverzehr von 115 g/Tag verlor Kaninchen 1 70 g an Gewicht. Der Ca-Spiegel erfuhr eine Steigerung um 0,6 mg/100 ml im Vergleich zum Anfangswert. Der P-Spiegel erhöhte sich um 2,54 mg/100 ml.

Tab. 18

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 120°C ausgesetzt war (Kaninchen 5).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3700	---	13,0	2,21
2	3570	105	13,2	3,04
3	3520	105	13,8	4,92
4	3580	115	14,3	5,52
5	3515	115	15,1	6,04
6	3575	130	15,6	7,59
7	3520	140	15,3	7,58
8	3515	120	15,4	7,25

Der Durchschnittsverzehr von Kaninchen 5 betrug 120 g/Tag, die Gewichtsabnahme 185 g. Der Ca-Spiegel stieg um 2,6 mg/100 ml, der P-Spiegel um 5,38 mg/100 ml.

Tab. 19

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 140°C ausgesetzt war (Kaninchen 3).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3935	---	12,9	2,65
2	3920	70	13,8	3,39
3	3935	120	14,1	4,38
4	3945	115	14,4	4,80
5	3900	130	14,6	5,17
6	3925	120	14,6	5,38
7	3885	110	14,6	5,54
8	3880	110	13,7	5,92

In der Versuchswoche nahm Kaninchen 3 pro Tag durchschnittlich 110 g Heu zu sich und verlor 55 g an Gewicht. Der Ca-Spiegel steigerte sich um 1,7 mg/100 ml, der P-Spiegel um 3,27 mg/100 ml.

ab. 20

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 160°C ausgesetzt war (Kaninchen 4).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 mg)	P (mg/100 ml)
1	3525	---	12,9	3,24
2	3505	95	13,0	3,52
3	3475	70	13,2	4,26
4	3470	70	13,2	4,34
5	3435	100	13,2	4,59
6	3415	100	13,6	4,96
7	3405	75	13,3	4,88
8	3390	85	14,1	5,98

Kaninchen 4 fraß durchschnittlich 85 g/Tag und nahm während der Versuchsfütterung 135 g ab. Der Ca-Spiegel erhöhte sich um 1,2 mg/100 ml, der P-Spiegel um 2,74 mg/100 ml.

ab. 21

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 180°C ausgesetzt war (Kaninchen 7).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3965	---	13,5	3,11
2	3970	90	13,8	2,58
3	3910	95	13,7	3,40
4	3845	55	14,0	2,99
5	3930	75	13,9	2,58
6	3960	140	14,0	2,95
7	3900	70	14,2	3,20
8	3865	90	14,8	3,11

Kaninchen 7 fraß durchschnittlich pro Tag 90 g Heu und erlitt einen Gewichtsverlust von 100 g. Der Ca-Spiegel erhöhte sich um 1,3 mg/100 ml; die Maximaldifferenz der Werte des P-Spiegels betrug 0,82 mg/100 ml. Da jedoch die Verlaufskurve der

acht Werte des P-Spiegels keine Steigerung erkennen läßt, ist diese Differenz als Tagesschwankung aufzufassen und nicht auf eine möglicherweise vorhandene Goldhaferwirkung zurückzuführen.

Zusammenfassend läßt sich folgendes feststellen:

Je höher die Temperatur war, der der Goldhafer ausgesetzt wurde, desto schlechter wurde das Futter im allgemeinen aufgenommen, und desto stärker war der Gewichtsverlust der Kaninchen. Eine Ausnahme hiervon bildete Kaninchen 5 im "120°C-Versuch", in dem es bei dem höchsten täglichen Durchschnittsverzehr von 120 g dennoch mit 185 g den stärksten Gewichtsverlust zu verzeichnen hatte. Kaninchen 5 fiel auch insofern aus der Reihe, als es wesentlich stärker auf den Goldhafer reagierte als die anderen Kaninchen. Die Antwort auf die Goldhaferfütterung bestand bei allen Versuchen, auch bei dem Fütterungsversuch mit auf 180°C erhitztem Goldhaferheu, in einer Erhöhung des Blut-Ca-Spiegels. Der Blut-P-Spiegel war bis zu einer Erhitzungstemperatur des Goldhafers von 160°C deutlich erhöht, während beim "180°C-Versuch" keine derartige Tendenz erkennbar war. Somit war die kalzinogene Aktivität des Goldhaferheus nach einstündiger Erhitzung auf 160°C noch vorhanden, was nach Erhitzung auf 180°C offenbar nicht mehr der Fall war.

Versuche zur Prüfung der Hitzestabilität des kalzinogenen Wirkstoffes des getrockneten Goldhafers im Temperaturbereich zwischen 160°C und 180°C

Die Ergebnisse der Orientierungsversuche sollten im zwischen 160°C und 180°C vermuteten kritischen Temperaturbereich durch die folgenden Versuche überprüft werden. Hierzu wurde die Temperaturstufe 170°C neu mit in die Untersuchungen einbezogen. Von jeder Erhitzungsstufe sollten drei Fütterungsversuche durchgeführt werden, wobei die beiden Fütterungsversuche mit auf 160°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu aus den Orientierungsversuchen mitzuzählen waren. Somit waren je zwei weitere Versuche mit auf 160°C und 180°C sowie drei Versuche mit auf 170°C erhitztem Goldhaferheu vorgesehen.

Die Blut-Ca-Spiegel der sieben Kaninchen zu Versuchsbeginn (Ca_1) waren im physiologischen Bereich. Die P_1 -Werte bei diesen gleichzeitig durchgeführten Experimenten waren jedoch höher als die üblicherweise bei Fütterung von Kontrollheu festgestellten Plasma-P-Spiegel. Am zweiten Versuchstag, also einen Tag nach dem Beginn der Goldhaferfütterung, an dem ein Einfluß des Goldhafers auf den Plasma-P-Spiegel im allgemeinen noch nicht festzustellen ist, lag der P-Spiegel aller sieben Versuchstiere um 0,5 mg/100 ml bis 1 mg/100 ml niedriger als zu Versuchsbeginn; es läßt sich also vermuten, daß diese P_1 -Werte nur scheinbar über den üblichen Plasma-P-Spiegeln bei Kontrollheufütterung lagen und es sich hierbei um einen meßtechnisch bedingten Effekt gehandelt hat. Eine Überprüfung des Kontrollheus ergab, daß es keine kalzinogene Aktivität besaß. Sicherheitshalber wurde diese erste Versuchsreihe jedoch wiederholt. Da aber - von den P_1 -Werten abgesehen - die Wiederholungsversuche in der Tendenz mit der zuerst durchgeführten Versuchsreihe übereinstimmten, werden im folgenden beide Versuchsreihen aufgeführt.

Aus den Tabellen 22 bis 35 sind neben der Erhitzungstemperatur des Goldhafers Verzehr und Gewichtsentwicklung der Versuchstiere sowie der Verlauf ihrer Ca- und P-Blutspiegel zu entnehmen.

Tab. 22

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 160°C ausgesetzt war (Kaninchen 1).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3435	---	13,2	4,18
2	3450	110	14,3	3,23
3	3470	120	13,8	4,22
4	3450	90	13,4	4,22
5	3405	105	13,3	3,72
6	3420	105	13,7	3,97
7	3415	100	14,9	4,88
8	3390	65	14,4	4,68

Bei einem Durchschnittsverzehr von 100 g/Tag verlor Kaninchen 1 insgesamt 45 g an Gewicht. Der Ca-Spiegel hatte am Tag 7 einen Wert erreicht, der um 1,7 mg/100 ml über dem Ausgangsspiegel lag. Der höchste Wert des P-Spiegels am Tag 7 lag um 1,65 mg/100 ml über dem niedrigsten Wert des Tages 2.

Tab. 23

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 160°C ausgesetzt war (Kaninchen 6).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3030	---	12,8	3,68
2	3080	125	13,7	3,06
3	3005	100	14,0	4,14
4	3010	90	14,4	4,59
5	2975	100	13,7	4,55
6	2950	70	13,9	5,71
7	2955	55	13,9	4,39
8	2945	85	14,4	4,39

Der Durchschnittsverzehr von Kaninchen 6 lag bei 90 g/Tag, die Gewichtsabnahme bei 85 g. Der Ca-Spiegel hatte eine Steigerung um 1,6 mg/100 ml erfahren, der P-Spiegel um 2,65 mg/100 ml.

Tab. 24

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 170°C ausgesetzt war (Kaninchen 7).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3650	---	13,1	4,55
2	3730	115	14,3	3,68
3	3850	60	14,1	3,76
4	3575	95	14,6	4,80
5	3565	100	15,4	5,05
6	3645	150	14,5	4,63
7	3570	95	14,5	5,13
8	3690	100	14,5	5,01

Verzehr (im Durchschnitt 100 g/Tag) und Gewichtsentwicklung von Kaninchen 7 waren sehr unterschiedlich; im Vergleich zum Anfangsgewicht erfolgte keine Abnahme. Die Maximaldifferenz der Werte des Ca-Spiegels betrug 2,3 mg/100 ml, die des P-Spiegels 1,45 mg/100 ml.

Tab. 25

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 170°C ausgesetzt war (Kaninchen 2).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3660	---	13,3	4,71
2	3715	125	14,3	3,57
3	3705	125	14,9	4,01
4	3715	100	14,3	4,88
5	3635	100	14,1	4,84
6	3620	115	14,4	5,05
7	3610	35	14,0	5,53
8	3490	30	13,9	5,14

Die Futteraufnahme von Kaninchen 2 (im Durchschnitt 90 g/Tag) war an den Tagen 2 bis 6 gut, an den Tagen 7 und 8 jedoch sehr schlecht. Der Gewichtsverlust betrug allein von Tag 7 auf Tag 8 120 g. Der Höchstwert des Ca-Spiegels war bereits am Tag 3 erreicht und lag um 1,6 mg/100 ml über dem Ausgangswert; der zweithöchste Wert des Tages 6 lag um 1,3 mg/100 ml darüber. Die Maximaldifferenz der Werte des P-Spiegels betrug 1,96 mg/100 ml.

Tab. 26

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 170°C ausgesetzt war (Kaninchen 3).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3770	---	13,1	3,86
2	3760	90	13,6	3,27
3	3800	65	13,4	3,65
4	3785	85	13,5	4,24
5	3730	95	13,8	4,79
6	3735	65	13,2	4,79
7	3770	85	14,0	4,28
8	3705	80	14,8	5,50

Der Durchschnittsverzehr von Kaninchen 3 betrug 80 g/Tag, die Gewichtsabnahme 65 g. Der Ca-Spiegel stieg um 1,7 mg/100 ml an, der P-Spiegel um 2,23 mg/100 ml.

Tab. 27

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 180°C ausgesetzt war (Kaninchen 5).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3410	---	12,0	3,72
2	3310	105	13,0	3,97
3	3345	90	13,1	3,43
4	3335	120	13,9	3,81
5	3345	95	12,9	3,89
6	3290	95	13,2	5,46
7	3195	65	13,1	4,51
8	3130	60	13,2	5,38

Der Durchschnittsverzehr von Kaninchen 5 lag bei 90 g/Tag; an den letzten beiden Tagen wurde jedoch deutlich weniger Futter aufgenommen als an den Tagen vorher. Die Gewichtsabnahme betrug 280 g. Der höchste Wert des Ca-Spiegels war am Tag 4 erreicht und lag um 1,9 mg/100 ml über dem Ausgangswert; der Wert der Tage 6 und 8 lag um 1,2 mg/100 ml darüber. Die Maximaldifferenz der Werte des P-Spiegels betrug 2,03 mg/100 ml.

Tab. 28

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 180°C ausgesetzt war (Kaninchen 4).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3230	---	12,9	3,93
2	3160	50	12,9	3,76
3	3175	75	14,0	4,34
4	3185	85	13,4	4,01
5	3150	85	13,4	4,18
6	3085	75	13,4	4,55
7	3095	40	12,8	4,59
8	3000	25	13,5	4,88

Kaninchen 4 fraß im Durchschnitt 60 g Heu/Tag; der Verzehr war an den Tagen 7 und 8 besonders niedrig. Der Gewichtsverlust betrug 230 g. Der höchste Ca-Wert des Tages 3 lag um 1,1 mg/100 ml über dem Wert des Tages 1; der zweithöchste Wert des Tages 8 war um 0,6 mg/100 ml höher als der Anfangswert. Der P-Spiegel stieg um 1,12 mg/100 ml an.

Versuchsreihe 2)

Tab. 29

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 160°C ausgesetzt war (Kaninchen 3).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3985	---	13,4	3,07
2	3910	100	13,6	3,77
3	3895	115	13,8	3,81
4	3895	120	13,2	4,47
5	3875	105	13,5	4,30
6	3900	105	14,1	4,51
7	3840	85	13,1	5,25
8	3850	90	13,8	4,18

Der durchschnittliche Verzehr von Kaninchen 3 betrug 100 g/Tag bei einem Gewichtsverlust von 135 g. Der Ca-Spiegel hatte am Tag 6 sein Maximum, das um 0,7 mg/100 ml über dem Ausgangswert lag. Der P-Spiegel stieg um 2,18 mg/100 ml.

Tab. 30

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 160°C ausgesetzt war (Kaninchen 6).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3145	---	13,6	3,31
2	3055	75	13,1	3,76
3	3120	70	13,7	3,27
4	3020	95	12,9	3,35
5	3000	90	13,2	4,47
6	3010	85	13,2	4,39
7	2955	95	14,1	4,63
8	2990	105	14,0	4,10

Kaninchen 6 fraß durchschnittlich 90 g Heu pro Tag und erlitt einen Gewichtsverlust von 155 g. Der höchste Ca-Wert des Tages 7 war um 0,5 mg/100 ml höher als der Ca-Spiegel zu Versuchsbeginn. Der P-Spiegel erfuhr eine Steigerung um 1,32 mg/100 ml im Vergleich zum Ausgangswert.

Tab. 31

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 170°C ausgesetzt war (Kaninchen 2).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3920	---	13,2	3,15
2	3920	105	12,6	3,33
3	3900	120	12,1	3,70
4	3880	100	14,1	3,99
5	3885	140	13,5	4,11
6	3845	130	13,2	4,60
7	3825	120	13,7	4,60
8	3775	95	14,2	5,17

Der Tagesverzehr von Kaninchen 2 ergab im Durchschnitt 115 g bei einer Gewichtsabnahme von 145 g. Der Maximalwert des Ca-Spiegels des Tages 8 lag um 1 mg/100 ml über dem Ausgangswert. Der P-Spiegel stieg um 2,02 mg/100 ml an.

Tab. 32

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 170°C ausgesetzt war (Kaninchen 6).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3175	---	12,0	3,42
2	3205	100	13,0	3,99
3	3145	90	13,4	3,86
4	3130	85	14,9	4,64
5	3140	90	12,3	3,99
6	3120	90	12,9	4,11
7	3050	90	13,8	4,31
8	3060	70	13,2	4,51

Kaninchen 6 fraß durchschnittlich 90 g Heu/Tag und verlor 115 g an Gewicht. Der Höchstwert des Ca-Spiegels am Tag 4 lag um 2,9 mg/100 ml über dem Wert zu Versuchsbeginn. Der zweithöchste Wert des Tages 7 lag um 1,8 mg/100 ml darüber. Auch der P-Spiegel hatte am Tag 4 sein Maximum, das um 1,22 mg/100 ml über dem Anfangsspiegel lag. Der zweithöchste Wert des Tages 8 lag um 1,09 mg/100 ml darüber.

Tab. 33

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 170°C ausgesetzt war (Kaninchen 7).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	4000	---	13,0	3,69
2	3930	115	13,9	3,65
3	3870	135	13,8	4,43
4	3860	130	13,4	4,75
5	3890	115	14,7	5,29
6	3820	110	13,1	4,96
7	3860	110	13,4	4,92
8	3775	110	13,6	4,84

Kaninchen 7 nahm im Durchschnitt 120 g Heu/Tag zu sich und nahm während der Versuchsfütterung 225 g ab. Der Ca-Spiegel erfuhr bis zum Tag 5 eine Steigerung um 1,7 mg/100 ml. Auch der P-Spiegel hatte seinen Höchstwert am Tag 5, der um 1,6 mg/100 ml über dem Ausgangsspiegel lag.

Tab. 34

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 180°C ausgesetzt war (Kaninchen 3).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3965	---	13,4	3,23
2	3915	90	13,9	3,36
3	3870	95	11,8	3,64
4	3840	60	12,0	3,84
5	3820	60	11,7	4,40
6	3785	90	13,7	4,56
7	3740	70	14,8	4,36
8	3690	65	14,3	4,52

Kaninchen 3 fraß durchschnittlich 75 g Heu pro Tag und nahm in den acht Versuchstagen 275 g ab. Der Ca-Spiegel erfuhr im Vergleich zu seinem Anfangswert eine Steigerung um 0,9 mg/100 ml. Der P-Spiegel stieg um 1,33 mg/100 ml an.

Tab. 35

Gewichtsentwicklung, Tagesverzehr und Verlauf der Blutspiegel von Ca und P bei einwöch. Alleinfütterung von Goldhaferheu, das einer einstündigen Erhitzung auf 180°C ausgesetzt war (Kaninchen 4).

Tag	Gewicht (g)	Verzehr (g)	Ca (mg/100 ml)	P (mg/100 ml)
1	3470	---	12,5	3,27
2	3455	80	12,1	3,27
3	3400	85	12,3	3,51
4	3400	75	11,9	3,67
5	3320	50	11,5	4,36
6	3310	55	12,6	4,52
7	3220	25	13,3	4,16
8	3205	65	13,0	4,48

Bei einem durchschnittlichen Tagesverzehr von 60 g nahm Kaninchen 4 um 265 g ab. Der Ca-Spiegel stieg im Vergleich zu seinem Anfangswert um 0,5 mg/100 ml an. Die Maximaldifferenz der Werte des P-Spiegels betrug 1,25 mg/100 ml.

Zusammenfassung der Ergebnisse der Fütterungsversuche mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu

Der durchschnittliche Tagesverzehr lag bei den fünf "180°C-Versuchen" (Tab. 21, 27, 28, 34, 35) mit 75 g pro Tier am niedrigsten. Bei den sechs "170°C-Versuchen" (Tab. 24-26, 31-33) wurde täglich im Durchschnitt 100 g, bei den fünf "160°C-Versuchen" (Tab. 20, 22, 23, 29, 30) 95 g Heu aufgenommen. Die durchschnittliche wöchentliche Gewichtsabnahme war bei den fünf "180°C-Versuchen" mit 230 g am höchsten; bei den "170°C-Versuchen" belief sie sich auf 120 g, bei den "160°C-Versuchen" auf 110 g.

Die Blut-Ca-Spiegel der Fütterungsversuche mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu zeigten keinen kontinuierlichen Verlauf. Die Werte zu Versuchsbeginn waren zwar bei jedem der 16 Versuche niedriger als die Werte am Ende der Probefütterung, Schwankungen der Verlaufskurven waren jedoch die Regel. In 10 von 16 Versuchen (=62,5%) war der Anfangswert der Minimalwert, in 6 von 16 Versuchen (=37,5%) der Endwert der Maximalwert der jeweiligen Verlaufskurve. Bei 7 der 16 Versuche (=44%) traten die Maxima der Verlaufskurven der Ca- und der P-Spiegel an demselben Tag auf. Um die Erhöhung des Ca-Spiegels zu bemessen, wurde die Differenz des höchsten Wertes der Ca-Verlaufskurve minus dem Wert des Ca-Spiegels zu Versuchsbeginn errechnet. Hierbei ließ sich zwischen den Fütterungsversuchen mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu kein signifikanter Unterschied feststellen: Der durchschnittliche Ca-Anstieg der "160°C-Versuche" betrug 1,1 mg/100 ml, der Anstieg der "170°C-Versuche" 1,8 mg/100 ml und der der "180°C-Versuche" 1,1 mg/100 ml.

Um ein Maß für den Anstieg des P-Gehaltes während eines Versuchs zu erhalten, wurde die Differenz des höchsten P-Wertes im Verlauf der Probefütterung minus dem niedrigsten Wert ("P-Differenz") gebildet. Bis auf die in den Tabellen 22 - 28 registrierten "Erstversuche" stellte der Wert zu Versuchsbeginn den jeweils niedrigsten Wert dar. Bei den "Erstversuchen"

lag der P-Wert des Tages 2 im Durchschnitt um ca. 0,7 mg /100 ml unter dem Wert zu Versuchsbeginn, weshalb bei diesen Versuchen zur Errechnung der P-Differenz der Wert des Tages 2 benutzt wurde.

Wenn man die Zahlenwerte der P-Differenzen der insgesamt 16 Fütterungsversuche mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu der Größe nach ordnet, so ergibt sich für jeden dieser Werte eine Position zwischen 1 und 16. Die Position 1 wird von dem Zahlenwert des Fütterungsversuches mit der geringsten Zunahme des Plasma-P-Gehaltes der Kaninchen eingenommen, die Position 16 hat die P-Differenz des Versuches mit der stärksten Erhöhung des Plasma-P-Spiegels inne. Um differenzieren zu können, ob die jeweilige P-Differenz einem "160°C-Versuch", einem "170°C-Versuch" oder einem "180°C-Versuch" entstammt, wurden alle P-Differenzen, die bei Versuchen mit Verfütterung von bei derselben Temperatur erhitztem Goldhaferheu ermittelt wurden, in einer waagrechten Zeile angeordnet. Siehe hierzu die folgende Tabelle!

Position	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
160°C					1,32				1,65				2,18		2,6
170°C			1,22				1,45	1,60		1,96	2,02			2,23	
180°C	0,82	1,12		1,25		1,33						2,03			

Aus der Tabelle geht hervor, daß die niedrigen Positionen größtenteils aus den "180°C-Versuchen" und die hohen Positionen aus den "160°C-Versuchen" stammen, während die P-Differenzen der "170°C-Versuche" dazwischen liegen. Wenngleich sich bei der Anwendung eines statistischen Testes (Mann-Whitney-Test; WEBER, 1972/ 169) kein signifikanter Unterschied ermitteln ließ zwischen den Plasma-P-Spiegeln von Kaninchen, die eine Woche lang mit Goldhaferheu gefüttert worden waren, das einer einstündigen Erhitzung auf 160°C, 170°C

oder 180°C ausgesetzt war, läßt die Tabelle doch den Trend erkennen, daß die Einwirkung höherer Temperaturen zu niedrigeren P-Differenzen führt als die Einwirkung geringerer Temperaturen. Dies ist auch aus den Mittelwerten der P-Differenzen ersichtlich: Bei den "160°C-Versuchen" betrug der Durchschnittswert der maximalen Zunahmen der Plasma-P-Spiegel 2,11 mg/100 ml, bei den "170°C-Versuchen" 1,75mg/100 ml und bei den "180°C-Versuchen" 1,31 mg/100 ml.

Bemerkenswert ist, daß sowohl bei den "160°C-Versuchen" als auch bei den "180°C-Versuchen" die höchste P-Differenz bei Kaninchen 5 gefunden wurde, und Kaninchen 5 bereits als besonders stark auf den kalzinogenen Wirkstoff des Goldhafers reagierend aufgefallen war.

Nachdem das auf 180°C erhitzte Heu einen brandigen Geruch und eine schmutzig-braune Farbe aufwies und wahrscheinlich deshalb von den Kaninchen nur widerwillig verzehrt wurde, wurden trotz der anscheinend noch bestehenden geringgradigen kalzinogenen Aktivität des Goldhafers keine weiteren Versuche mit noch höheren Temperaturen durchgeführt. Vermutlich wären der Verzehr noch geringer und die Gewichtsabnahme noch höher gewesen, was zu starker gesundheitlicher Beeinträchtigung der Tiere geführt hätte. Die Folge wäre eine Entgleisung des Stoffwechsels gewesen, so daß eine eindeutige Beziehung zwischen der Temperatureinwirkung auf den Goldhafer und dem Verlauf der Blutspiegel von Ca und P wegen der daraufhin einsetzenden Regulationsmechanismen des Organismus wohl nicht mehr festzustellen gewesen wäre.

anorg. Phosphat
(mg/100 ml Plasma)

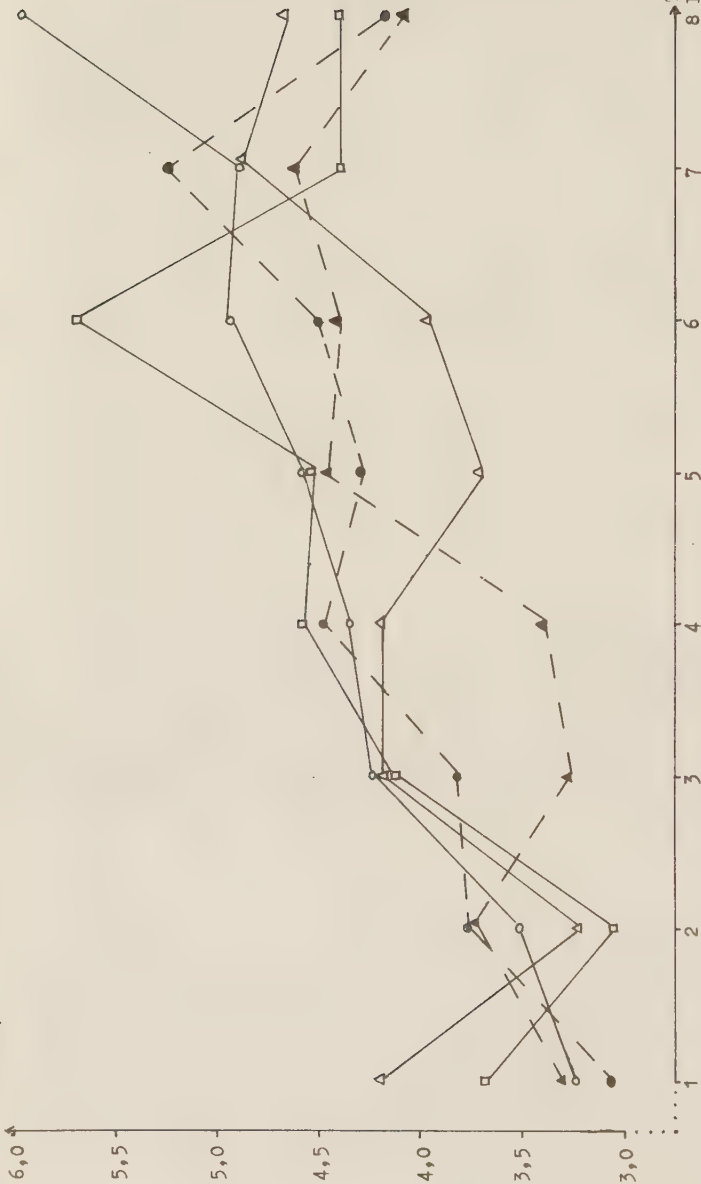


Abbildung 3: Verlauf der Plasma-Phosphor-Spiegel bei Kaninchen
während einwöchiger Fütterung von auf 160°C
erhitztem Goldhaferheu.

Kan. 4, Tab. 20 —○—
Kan. 1, Tab. 22 —△—
Kan. 6, Tab. 23 —□—
Kan. 3, Tab. 29 —●—
Kan. 5, Tab. 28 —▲—

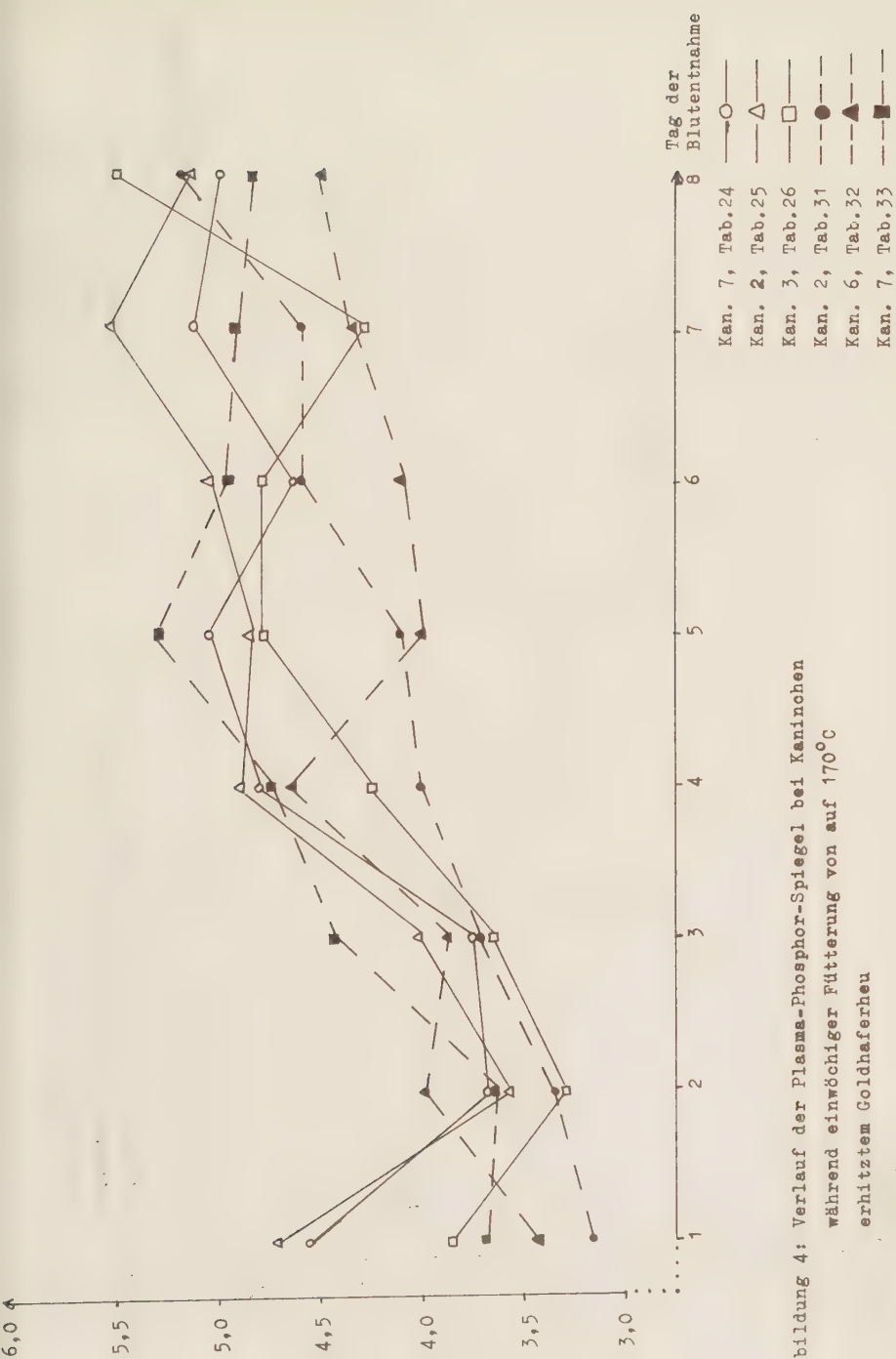


Abbildung 4: Verlauf der Plasma-Phosphor-Spiegel bei Kaninchen
während einwöchiger Fütterung von auf 170°C
erhitztem Goldhaferheu

anorg. Phosphat
(mg/100 ml Plasma)

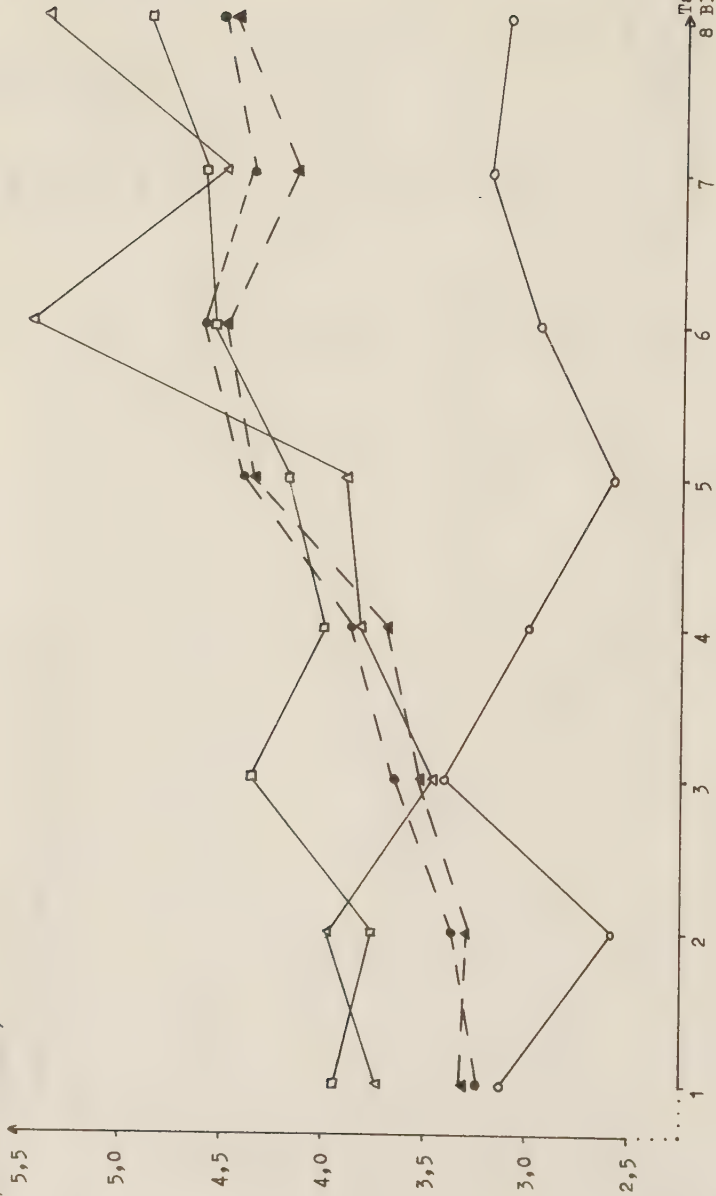


Abbildung 5: Verlauf der Plasma-Phosphor-Spiegel bei Kaninchen während einwöchiger Fütterung von auf 180°C erhitztem Goldhaferheu

Kan. 7, Tab. 21 —○—
 Kan. 5, Tab. 27 —△—
 Kan. 4, Tab. 28 —□—
 Kan. 3, Tab. 34 —●—
 Kan. 2, Tab. 35 —▲—
 Kan. 1, Tab. 36 —◆—

DISKUSSION

Die kalzinogene Aktivität von *Solanum malacoxylon* und *Trisetum flavescens* wurde unter dem Einfluß unterschiedlicher Temperaturen untersucht.

Hierzu wurde als kleines Versuchstier das Kaninchen gewählt, weil es sich bereits vielfach zur Erforschung der kalzinogenen Aktivität verschiedenartiger Pflanzen und Wirkstoffe bewährt hatte (31; 32; 90; 91; 100; 101; 102; 130; 131; 158; 174; 175). Als Kriterium für Vorhandensein und Ausmaß der kalzinogenen Aktivität diente in erster Linie die Erhöhung des Plasmaspiegels des anorganischen Phosphats, eines Parameters, der sowohl für die Solanumwirkung (MAUTALEN u. M./ 100; 101; 102) als auch für die Trisetumwirkung (WOLF / 174) als charakteristisch befunden worden ist. Beide Autoren erachten die Untersuchung dieses Blutparameters als aussagekräftig und ausreichend für die Beurteilung des Grades der kalzinogenen Wirkung von *Solanum malacoxylon* und *Trisetum flavescens*. Der Vollständigkeit halber wurde auch der Kalzium-Spiegel des Plasmas mitbestimmt, dem jedoch beim Kaninchen im Gegensatz zu anderen Spezies in der Literatur geringere Aussagekraft über die kalzinogene Wirkung eingeräumt wird (5; 17; 37; 100; 102; 174).

Bei den eigenen Untersuchungen ließ sich aus über einhundert Blutproben von Kaninchen, die nicht unter dem Einfluß der Fütterung kalzinogener Substanzen standen, für den Plasma-Ca-Spiegel ein Normalwert von $13,5 \pm 1,1$ mg/100 ml ermitteln. Dieser Durchschnittswert liegt etwas unter dem von JEAN-BLAIN für Kaninchen angegebenen Wert von 14,0 mg/100 ml (73). Der oben genannte Streubereich wurde auch bei Blutproben, die 20 Stunden nach der oralen Verabreichung von 50 mg getrockneter und zerriebener *Solanum-malacoxylon*-Blätter gewonnen worden waren, in keinem Fall verlassen, wobei es keine Rolle spielte, ob das SM-Pulver erhitzt gewesen war oder nicht. Es läßt sich also feststellen, daß aus dem Verhalten der Plasma-Ca-Spiegel der Kaninchen keine Beziehung zu einer vorausgegangenen SM-Applikation hergeleitet werden konnte. Dies steht im Einklang

mit Untersuchungen von BASUDDE und HUMPHREYS (5), die nach oraler Verabreichung eines wäßrigen Extraktes von 2,5 g Solanum-Blättern innerhalb von 20 Stunden keinen signifikanten Anstieg des Ca-Spiegels beobachten konnten. MAUTALEN u. M. (102) konnten hingegen innerhalb von 24 Stunden nach Applikation eines wäßrigen Extraktes von 250 mg Solanum-Blättern einen Anstieg des Ca-Spiegels von $14,6 \pm 0,6$ mg/100 ml auf $15,7 \pm 1,2$ mg/100 ml feststellen ($p < 0,02$).

Der Plasma-P-Spiegel der Kaninchen verhielt sich nach oraler Verabreichung von 50 mg SM-Pulver, das verschiedenen Temperaturen ausgesetzt war, unterschiedlich. Während 50 mg nicht-erhitzten SM-Pulvers 20 Stunden nach der Applikation zu einer annähernd gleich hohen durchschnittlichen Steigerung des P-Spiegels führten wie die gleiche Menge SM-Pulver, das eine Stunde lang auf 100°C , 110°C , 120°C oder 130°C erhitzt worden war, war der durchschnittliche P-Anstieg nach Erhitzung des SM-Pulvers auf noch höhere Temperaturen in unterschiedlichem Maße geringer. So lag die Differenz der beiden P-Spiegel ("P-Differenz") bis zu einer Erhitzungstemperatur des SM-Pulvers auf 130°C über $2,3$ mg/100 ml; bei Erhitzung auf 140°C lag die durchschnittliche P-Differenz unter $1,9$ mg/100 ml, bei 150°C um $1,6$ mg/100 ml, bei 160°C unter $1,3$ mg/100 ml und bei 170°C unter $0,6$ mg/100 ml. Bei einer Erhitzungstemperatur auf 180°C war keine Erhöhung des P-Spiegels, somit keine kalzinogene Aktivität mehr vorhanden. Sofern man die Höhe des Anstieges des Plasma-P-Gehaltes als Ausdruck einer unterschiedlich starken Kalzinogenität bewerten kann, war es also, beginnend bei Erhitzung des SM-Pulvers auf 140°C , mit steigender Temperatur zu einem kontinuierlichen Abfall der kalzinogenen Aktivität des aktiven Wirkstoffes in dem verwendeten Solanum-Pulver gekommen. Die Abbildung 2 läßt den Abfall der Mittelwerte der P-Differenzen annähernd linear erscheinen.

Die Spannweite der Erhöhung des P-Wertes bei den Versuchen mit auf 100°C bis 150°C erhitztem SM-Pulver liegt in einem Rahmen zwischen $1,15$ mg/100 ml und $1,51$ mg/100 ml, wie sich auch aus der Abbildung I entnehmen läßt. In diesem Bereich

ist es also zu einer starken Divergenz der Werte gekommen. Aus der Abbildung II ergibt sich, daß dies der Temperaturbereich ist, bei dem die mittlere P-Differenz, also ein Indikator für die kalzinogene Wirkung von *Solanum malacoxylon*, am höchsten ist; sie liegt zwischen 1,64 mg/100 ml und 2,60 mg/100 ml. Daraus läßt sich ersehen, wie unterschiedlich die einzelnen Kaninchen auf die kalzinogene Aktivität reagieren. Dies bestätigt die Beobachtung, die WOLF (174) bei Versuchen mit *Trisetum flavescens* gemacht hat, auch für *Solanum malacoxylon*. Im übrigen sahen HÖPPNER u. M. (1974/ 65) bei der Untersuchung des Einflusses großer Vitamin-D-Dosen auf den Mineralstoff- und Wassergehalt der Aortenwand von Masthähnchen eine starke Vergrößerung der Streuung bei den höchsten Vitamin-D-Dosen, also gleichfalls im Bereich der stärksten kalzinogenen Aktivität.

Die Verlaufskurven der P-Differenzen der Kaninchen 2 bis 7 (Abbildung I) verlaufen nicht bei jedem Tier so annähernd linear wie der Kurvenverlauf aller Mittelwerte der P-Differenzen dieser sechs Kaninchen (Abbildung II). Aus dem Rahmen fällt hier besonders Kaninchen 5, dessen P-Differenzen bei 100°C und 130°C deutlich über den Werten von 110°C und 120°C liegen. Diese beiden hohen bzw. niedrigen Werte stellen auch jeweils die oberen bzw. unteren Eckwerte der betreffenden Spannweite dar. Betrachtet man die Verlaufskurven der übrigen fünf Kaninchen, so liegen deren Einzelwerte für die jeweilige Temperaturstufe näher zusammen. Außerdem sind sie in ihrem Verlauf jeweils der Verlaufskurve der Durchschnittswerte der P-Differenzen ähnlicher. Ab der Temperaturstufe 160°C zeigen alle sechs Kaninchen einen annähernd linearen Abfall der P-Differenzen. Wie bereits erwähnt, liegen die Werte hier sehr eng beisammen.

Der Mittelwert der P-Differenzen nimmt von dem bei 130°C gefundenen bis zum Verschwinden der P-Spiegel-Erhöhung bei 180°C annähernd linear ab. Im Temperaturbereich zwischen 170°C und 180°C wird nach einstündiger Einwirkungs-

dauer jegliche kalzinogene Aktivität vernichtet. HAUSSLER u. M. (59) und WASSERMAN u. M. (162) schlossen aus einer Reihe von Eigenschaften des aktiven Prinzips von SM, daß es ein 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Glykosid sein müsse. Über die Thermolabilität von 1,25-DHCC liegen meines Wissens keine Untersuchungen vor, wohl aber über das thermische Verhalten von Vitamin D₃. Nach WINDAUS u. M. (172) geht es beim Erhitzen auf 200°C in zwei Umwandlungsprodukte über, das Pyro-vitamin-D₃ und das Iso-pyro-vitamin D₃. Das in Solanum malacoxylon vorhandene Vitamin-D₃-Derivat 1,25-DHCC ist offensichtlich weniger stabil.

Weshalb bei der Einwirkung steigender Temperaturen ein linearer Abfall erfolgt, ist unklar. Wenn das aktive Prinzip bei einer ganz bestimmten Temperatur zerstört wird, wäre ein abrupter Verlust der kalzinogenen Aktivität die Folge. Verschiedene Möglichkeiten bzw. Erklärungen bieten sich an: Entweder wird das 1,25-DHCC jeweils nur zu einem bestimmten Teil vernichtet, und der quantitativ geringere Rest bedingt eine quantitativ geringere P-Spiegel-Erhöhung, oder das aktive Prinzip geht bei den verschiedenen Temperaturen in andere, weniger aktive Vitamin-D-Metaboliten über, oder es wird anderweitig sukzessive immobilisiert.

Da Solanum malacoxylon bei uns nicht heimisch ist und außerdem eine Erhitzung der SM-Blätter zur Krankheitsprophylaxe außer Frage steht (die Aufnahme der Blätter erfolgt zusammen mit dem Futter und wird, wenn möglich, sogar vermieden, da den Rindern die Blätter nicht schmecken), ist die Bearbeitung der Frage seiner Thermolabilität theoretischer Natur und im Zusammenhang mit der Prüfung der Thermolabilität des aktiven Wirkstoffes im Goldhafer zu sehen.

Der Goldhafer ist das wichtigste Gras der Bergfettwiesen (KLAPP, 1971/ 75). Die durch dieses Gras hervorgerufene Kalzinose wird erst seit etwa 15 Jahren beobachtet, was LIBISELLER u. M. (91) mit dem Vordringen des Goldhafers im alpinen Grünland infolge Umstellung der Wirtschaftsweise in Zu-

sammenhang brachten. Mit der Futterzahl 7 (KLAPP/ 75) wurde er als eine sehr wertvolle Futterpflanze beurteilt. Die Frage, ob sich unter Aufrechterhaltung des Nährwerts seine kalzinogene Wirkung durch hohe Temperaturen beeinflussen läßt, schien also prüfenswert.

Der Prüfung wurde junges, blattreiches Heu unterzogen, das einen hohen Grad an kalzinogener Aktivität vermuten ließ. LIBISELLER u. M. (91) konnten mit Heu, das zu 80% Goldhafer enthielt, während eines einjährigen Fütterungsversuches bei Kaninchen keine pathologisch-anatomisch erfaßbare Kalzinose auslösen. WOLF (174) testete die kalzinogene Wirkung von Goldhafer sowohl in frischem als auch in getrocknetem Zustand anhand der Erhöhung des Plasma-Phosphor-Spiegels. Er fand in allen Chargen kalzinogene Aktivität. Mit dieser Methode wurde auch die kalzinogene Wirkung des im Mai 1977 geernteten Goldhafers einer Monokultur untersucht, der zur Testfütterung für die Thermolabilitätsversuche vorgesehen war. Seine kalzinogene Wirkung war nach deutlicher Erhöhung der Plasma-Spiegel von Ca und P unbestritten. Somit war er für die Fütterungsversuche geeignet.

Die Orientierungsversuche mit einwöchiger Fütterung von Goldhafer, der eine Stunde lang bei den Temperaturen 100°C, 120°C, 140°C und 160°C erhitzt war, ergaben, daß hierdurch die kalzinogene Aktivität nicht zu beeinträchtigen war. Nachdem nach einstündiger Erhitzung des Goldhafers auf 180°C das Vorhandensein von kalzinogener Aktivität zweifelhaft war, wurde in weiteren Versuchen der offenbar zwischen 160°C und 180°C liegende kritische Temperaturbereich einer Prüfung unterzogen.

Bei insgesamt 16 einwöchigen Fütterungsversuchen mit einer Stunde lang auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu lag der Plasma-Ca-Spiegel der Kaninchen am Ende der Versuchswoche in jedem Falle über dem Ca-Spiegel zu Versuchsbeginn. Die Ca-Verlaufskurven der einzelnen Versuche waren jedoch zu diskontinuierlich und die maximalen Zunahmen der jeweiligen Ca-Spiegel zu wenig deutlich, als daß sich ein cha-

rakteristischer Unterschied zwischen den Ca-Spiegeln der "160°C-", "170°C-" und "180°C-Versuche" hätte feststellen lassen. So war einerseits bei zwei "170°C-Versuchen" ein Anstieg des Ca-Spiegels zu registrieren, der höher war als der von 2,2 mg/100 ml aus dem Fütterungsversuch mit nicht-erhitztem Goldhaferheu, wie auch bei den "160°C-" und "180°C-Versuchen" Werte zu finden waren, die nur um wenig unter diesem Betrag lagen. Andererseits ließen sich bei Versuchen mit Verfütterung von auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu auch Ca-Differenzen finden, die nur 1 mg/100 ml betrugen oder darunter lagen. Nachdem sich also kein einheitliches Bild zeigte, ist festzustellen, daß aus dem Verhalten der Plasma-Ca-Spiegel der Kaninchen keine eindeutigen Rückschlüsse auf die kalzinogene Aktivität des verfütterten Goldhaferheus zu ziehen waren. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen WOLF u. M. (175) bei der Untersuchung der Ca-Spiegel von Kaninchen, die nichterhitzten, getrockneten Goldhafer als Alleinfutter erhielten. Sie registrierten innerhalb einer Woche Anstiege der Ca-Spiegel um durchschnittlich 0,9 mg/100 ml (0,5 mg/100 ml - 1,7 mg/100 ml), die sie als "unwesentlich" einstufen.

Bei diesen Versuchen ermittelten WOLF u. M. (175) für die Plasma-P-Spiegel der Kaninchen eine durchschnittliche maximale Zunahme um 2,99 mg/100 ml (1,76 mg/100 ml - 3,44 mg/100 ml). Das eigene Goldhaferheu erbrachte bei Verfütterung im nichterhitzten Zustand mit einem Anstieg des P-Spiegels um 2,96 mg/100 ml einen Wert, der in diesem Rahmen lag. Nachdem Orientierungsversuche mit Verfütterung von auf 100°C, 120°C, 140°C und 160°C erhitztem Goldhaferheu Zunahmen der P-Spiegel erbrachten, deren Maxima alle in diesem Rahmen lagen oder darüber hinausgingen, konnte davon ausgegangen werden, daß das Heu hinreichend kalzinogene Aktivität besaß und als Versuchsheu geeignet war. Bei den Fütterungsversuchen mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu war der Durchschnittswert der maximalen Zunahmen der P-Spiegel unterschiedlich. Während

er bei den "160°C-Versuchen" mit 2,11 mg/100 ml (1,32 mg/100 ml - 2,74 mg/100 ml) noch nahe an den von WOLF u. M. angegebenen maximalen Zunahmen für P-Spiegel nach Verfütterung von nichterhitztem Goldhaferheu lag, erbrachten die "170°C-Versuche" mit 1,75 mg/100 ml (1,22 mg/100 ml - 2,23 mg/100 ml) und vor allem die "180°C-Versuche" mit 1,31 mg/100 ml (0,82 mg/100 ml - 2,03 mg/100 ml) deutlich niedrigere Werte. Wenngleich der Unterschied zwischen den Plasma-P-Spiegeln der Fütterungsversuche mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu nicht statistisch signifikant war, läßt sich doch der Trend erkennen, daß die Einwirkung höherer Temperaturen zu niedrigeren P-Differenzen führte, und somit, falls die Höhe der maximalen Zunahmen der P-Spiegel als Ausdruck unterschiedlich starker Kalzinogenität gelten kann, derart erhitztes Heu eine geringere kalzinogene Aktivität besaß als dies nach Einwirkung geringerer Temperaturen der Fall war. Diese Aussage muß jedoch insofern eingeschränkt werden, als mit 95 g Goldhaferheu pro Tier und Tag bei den "160°C-Versuchen" und mit 75 g bei den "180°C-Versuchen" der durchschnittliche Tagesverzehr unterschiedlich war und WOLF (174) darauf hinwies, daß bei Verfütterung von frischem Goldhafer Tiere mit einem höheren Futterverzehr höhere Plasma-P-Spiegel aufwiesen als Tiere mit niedrigerem Verzehr.

Aus dem Verhalten der P-Spiegel bei den eigenen Versuchen ergab sich, daß die Menge des verzehrten Goldhafers an sich ausreichend war zur Auslösung seiner kalzinogenen Wirkung. Dies steht im Einklang mit Untersuchungen von WOLF u. M. (175), die bei Versuchen mit Verfütterung von künstlich getrocknetem Goldhafer einen durchschnittlichen Tagesverzehr von 100 g pro Tier registrierten, der mit Steigerungen um 2,1 mg/100 ml (1,7 mg/100 ml - 2,65 mg/100 ml) zu deutlichen maximalen Zunahmen der P-Spiegel führte. Ein eventueller Einfluß des Hungerns auf den P-Spiegel der Kaninchen konnte vernachlässigt werden, da die insbesondere bei den "180°C-Versuchen" registrierten sehr niedrigen Tagesverzehrswerte

jeweils an den letzten beiden Versuchstagen aufgetreten waren, und die Plasma-P-Spiegel schon zu Zeiten guten Verzehrs ihre maximalen Zunahmen oder zumindest ähnlich hohe Werte erreicht hatten.

Obwohl eine Stunde lang auf 180°C erhitztes Goldhaferheu offenbar noch eine gewisse kalzinogene Wirkung besaß, konnten Versuche mit Erhitzung auf noch höhere Temperaturen nicht durchgeführt werden, da aufgrund des schlechten Verzehrs bei den "180°C-Versuchen" zu befürchten war, daß solches Heu von den Kaninchen nicht mehr oder nur widerwillig gefressen worden wäre. Die Aussagekraft eines derartigen Versuchs wäre zu gering und die Belastung für die Kaninchen zu groß gewesen.

So bleibt zu resummieren, daß bei einer Stunde auf 180°C erhitztem Goldhaferheu zwar ein Schwund seiner kalzinogenen Aktivität eingetreten war, diese jedoch noch nicht vollständig vernichtet war.

Wie aus den eigenen Untersuchungen hervorgeht, zeigt das aktive Prinzip von *Trisetum flavescens* ein anderes thermisches Verhalten als das aktive Prinzip von *Solanum malacoxylon*, einem 1,25-DHCC-Glykosid. Dieser Unterschied könnte darauf beruhen, daß es sich um strukturell verschiedene Wirkstoffe handelt. Auch ZUCKER u. M. (178) haben bei einer Reihe anderer Eigenschaften Unterschiede zwischen den aktiven Prinzipien von *Trisetum flavescens* und *Solanum malacoxylon* festgestellt und daraus geschlossen, bei den beiden aktiven Prinzipien müsse es sich um unterschiedliche Substanzen handeln. Zu einem weiteren Ergebnis der Untersuchungen von ZUCKER u. M., daß das aktive Prinzip von *Trisetum flavescens* auch nicht Vitamin D₃ sei, kann vom Standpunkt des thermischen Verhaltens der Substanzen aus leider nicht Stellung genommen werden, da aus technischen Gründen die Wirkung höherer Temperaturen als 180°C auf den aktiven Wirkstoff im Goldhafer nicht erprobt werden konnte, und nach WINDAUS u. M. (172) eine Inaktivierung des Vitamins D₃ erst bei 200°C erfolgt.

Zu Ergebnissen aus Untersuchungen von PETERLIK u. M. (120), in denen für das aktive Prinzip des Goldhafers eine ähnliche Wirkung wie für 1,25-DHCC nachgewiesen werden konnte, stehen die eigenen Ergebnisse wie auch die Ergebnisse von ZUCKER u. M. (178) in scheinbarem Widerspruch. Nachdem sich jedoch zwei Substanzen trotz struktureller Ähnlichkeit in bestimmten chemischen oder physikalischen Eigenschaften, z. B. dem thermischen Verhalten, unterscheiden können, sind die Ergebnisse dennoch durchaus vereinbar.

Es bleibt die Frage zu beantworten, ob hohe Temperaturen die kalzinogene Wirkung des Goldhafers zu beeinträchtigen vermögen, ohne seinen Nährwert zu vermindern. Dies muß in Anbetracht der Qualitätsminderung, die das Heu bei einstündiger Erhitzung auf 180°C regelmäßig erlitt und letztendlich dafür verantwortlich war, daß weitere Versuche mit noch höheren Temperaturen wegen zu befürchtender Verweigerung der Futteraufnahme von seiten der Kaninchen sich nicht durchführen ließen, verneint werden. Es sollte jedoch überprüft werden, ob nicht vielleicht bei anderen mit Erhitzung des Pflanzenmaterials arbeitenden Technologien - beispielsweise der Heißlufttrocknung - durch Vorgänge, die in obiger Versuchsanordnung nicht nachvollzogen wurden - der Verdampfung des Wassers bei der Erhitzung des dort nötigen frischen Grases - ein auf die kalzinogene Wirkung hemmender Einfluß ausgeübt wird. Daß die Einwirkung hoher Temperaturen einen gewissen Einfluß auf die Aktivität des kalzinogenen Wirkstoffes des Goldhafers ausübt, wurde aus den eigenen Untersuchungen zumindest für eine Temperatur von 180°C ersichtlich.

ZUSAMMENFASSUNG

Die kalzinogene Aktivität von *Solanum malacoxylon* und *Trisetum flavescens* wurde unter dem Einfluß der Einwirkung unterschiedlicher Temperaturen überprüft. Die vorliegende Arbeit ist als Beitrag zur praktischen Krankheitsbekämpfung der durch Goldhaferfütterung verursachten Enzootischen Kalzinose des Rindes zu sehen.

Im ersten Teil der Arbeit wird in chronologischer Reihenfolge eine Übersicht über die bisherigen Veröffentlichungen auf den Gebieten der "Enzootischen Kalzinose" des Rindes im bayerischen und österreichischen Alpenvorland, der südamerikanischen Rinderkalzinose "Enteque seco" bzw. "Espichamento", weiterer außereuropäischer Kalzinosen sowie der Vitamin-D-Forschung, einschließlich der Hypervitaminose D, gegeben.

Die eigenen Untersuchungen wurden in zwei Abschnitten durchgeführt, wobei auf das Kaninchen als kleines Versuchstier zur Überprüfung der kalzinogenen Aktivität sowohl von *Solanum malacoxylon* als auch von *Trisetum flavescens* zurückgegriffen wurde. Als Kriterium für die Beurteilung der kalzinogenen Aktivität beider Pflanzen wurde in erster Linie die Erhöhung des Plasma-Spiegels des anorganischen Phosphats betrachtet; diese Methode war bereits mehrfach erfolgreich angewandt worden (100; 101; 102; 174). Des weiteren wurde der Plasma-Kalzium-Spiegel untersucht.

Bei Versuchen mit Verfütterung von 50 mg getrockneten, pulverisierten Blättern von *Solanum malacoxylon* an Kaninchen ließ sich 20 Stunden nach der Verabreichung eine durchschnittliche Zunahme des Plasma-P-Gehaltes der Kaninchen um mehr als 2,3 mg/100 ml registrieren, wenn das Pflanzenmaterial nicht erhitzt oder einer einstündigen Erhitzung auf 100°C, 110°C, 120°C oder 130°C ausgesetzt war. Bei Erhitzungsversuchen mit einstündiger Einwirkung höherer Temperaturen ließ sich beobachten, daß die durchschnittliche Zunahme des Plasma-P-Gehaltes mit steigenden Temperaturen geringer wurde.

Solanum-Pulver, das einer einstündigen Erhitzung auf 180°C ausgesetzt war, war nicht mehr in der Lage, eine Erhöhung des Plasma-P-Gehaltes der Kaninchen zu bewirken. Sofern man die Höhe des Anstieges des Plasma-P-Gehaltes als Ausdruck einer unterschiedlich starken Kalzinogenität bewerten kann, war es, beginnend bei Erhitzung des Solanum-Pulvers auf 140°C, mit steigender Temperatur zu einem kontinuierlichen Abfall der kalzinogenen Aktivität des aktiven Wirkstoffes in dem verwendeten Solanum-Pulver gekommen. Aus dem Verhalten der Plasma-Ca-Spiegel der Kaninchen ließ sich keine Beziehung zu vorausgegangener Applikation von Solanum malacoxylon feststellen.

Nachdem eine einstündige Erhitzung auf 180°C in der Lage war, die gesamte kalzinogene Aktivität in Solanum malacoxylon zu vernichten, ist das aktive Prinzip von Solanum malacoxylon, ein 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Glykosid, offensichtlich weniger thermostabil als das Vitamin D₃, das nach WINDAUS u. M. (172) erst nach Erhitzung auf 200°C inaktiviert wird.

Bei den Versuchen mit Verabreichung von Solanum malacoxylon, das eine Stunde lang den Temperaturen 100°C bis 150°C ausgesetzt war, ließ sich bei den Plasma-P-Spiegeln der Kaninchen eine große Spannweite der P-Differenzen (= Anstieg des P-Spiegels 20 Stunden nach der Applikation von Solanum malacoxylon) feststellen. Dies ist als Ausdruck einer starken individuellen Variation der Kaninchen bei der Reaktion auf die Wirkung des aktiven Prinzips von Solanum malacoxylon zu werten, da bei der Verabreichung von noch höheren Temperaturen ausgesetztem Solanum-Pulver, dessen Aktivität geringer war, auch die P-Differenzen der einzelnen Kaninchen einer geringeren Streuung unterworfen waren.

Zur Prüfung der Thermolabilität des aktiven Wirkstoffes in *Trisetum flavescens* wurden bei Kaninchen einwöchige Fütterungsversuche mit eine Stunde lang bei unterschiedlichen Temperaturen erhitztem Goldhafer vorgenommen. Hierbei wurde der zwischen 160°C und 180°C liegende Tempera-

turbereich einer ausführlichen Prüfung unterzogen, nachdem Ergebnisse von Vorversuchen vermuten ließen, daß es in diesem Bereich zu einer Beeinträchtigung des kalzinogenen Wirkstoffes des Goldhafers kommen würde. Bei insgesamt 16 Fütterungsversuchen mit eine Stunde lang auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu ließ sich in jedem Falle eine Erhöhung des Plasma-Ca-Spiegels der Kaninchen feststellen, der nicht abwich von den maximalen Zunahmen der Ca-Spiegel, die WOLF u. M. (175) nach Verfütterung von nichterhitztem Goldhaferheu bei Kaninchen fanden, und die sie als "unwesentlich" einstufen. Nachdem die Ca-Verlaufskurven bei den eigenen Versuchen zum Teil stark schwankten und zudem die maximalen Zunahmen der jeweiligen Ca-Spiegel zu wenig deutlich waren, als daß sich ein charakteristischer Unterschied hätte feststellen lassen zwischen den Ca-Spiegeln, die bei Fütterungsversuchen mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu ermittelt wurden, erwies sich die Betrachtung des Verhaltens der Plasma-Ca-Spiegel der Kaninchen als nicht geeignet zur Beurteilung der kalzinogenen Aktivität des verfütterten Goldhaferheus.

Die Plasma-P-Spiegel der Kaninchen zeigten bei den Fütterungsversuchen mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu in der Regel zwar auch eine Steigerung, jedoch waren hier die maximalen Zunahmen unterschiedlich. Während sie mit durchschnittlich 2,11 mg/100 ml (1,32 mg/100 ml - 2,74 mg/100 ml) bei den Versuchen mit Verfütterung von eine Stunde auf 160°C erhitztem Goldhaferheu noch nahe den Werten lagen, die WOLF u. M. (175) nach Verfütterung von nichterhitztem Goldhaferheu ermittelten - sie fanden einen maximalen P-Anstieg um durchschnittlich 2,99 mg/100 ml (1,76 mg/100 ml - 3,44 mg/100 ml) - erbrachten die "170°C-Versuche" mit 1,75 mg/100 ml (1,22 mg/100 ml - 2,23 mg/100 ml) und vor allem die "180°C-Versuche" mit 1,31 mg/100 ml (0,82 mg/100 ml - 2,03 mg/100 ml) deutlich niedrigere Werte. Wenngleich der Unterschied zwischen den Plasma-P-Spiegeln der Fütterungsversuche mit auf 160°C, 170°C und 180°C erhitztem Goldhaferheu nicht statistisch signifi-

kant war, ließ sich doch der Trend erkennen, daß die Einwirkung höherer Temperaturen zu niedrigeren P-Differenzen führte als die Einwirkung geringerer Temperaturen. Somit wurde der kalzinogene Wirkstoff des Goldhafers stärker beeinträchtigt, sofern die Höhe der maximalen Zunahme des P-Spiegels als Ausdruck einer unterschiedlich starken Kalzinogenität gelten kann. Nichtsdestoweniger war eine gewisse kalzinogene Aktivität auch noch in auf 180°C erhitztem Goldhaferheu vorhanden. Versuche mit noch stärker erhitztem Heu konnten jedoch nicht durchgeführt werden, da zu befürchten war, daß es die Kaninchen nicht in ausreichendem Maße gefressen hätten.

Das aktive Prinzip in *Trisetum flavescens* erwies sich als hitzestabiler als das aktive Prinzip in *Solanum malacoxylon*. Somit handelt es sich hierbei offenbar um verschiedene Substanzen.

Hohe Temperaturen waren bei obiger Versuchsanordnung nicht in der Lage, die kalzinogene Wirkung des Goldhafers zu zerstören, ohne seine Qualität zu mindern. Erhitzung von Goldhaferheu auf derart hohe Temperaturen ist somit kein geeignetes Mittel zur praktischen Kalzinosebekämpfung. Es sollte jedoch überprüft werden, ob dies nicht vielleicht durch andere Technologien, beispielsweise die Heißlufttrocknung, bei der neben der Erhitzung noch andere Vorgänge eine Rolle spielen, erreicht werden kann.

SUMMARY

The influence of different degrees of temperature upon the calcinogenic activity of *Solanum malacoxylon* and *Trisetum flavescens* was tested. This dissertation is a contribution to the fight against the enzootic calcosinosis of cattle, caused by ingestion of yellow oat grass.

The survey of literature deals chronologically with publications on enzootic calcosinosis of cattle in Bavaria and Austria, Entequ seco caused by *Solanum malacoxylon* in South America, other Non-European calcosinosis and research on vitamin D including hypervitaminosis D.

The experiments were carried out in two series. Rabbits were used for testing the calcinogenic activity of both *Solanum malacoxylon* and *Trisetum flavescens*. Inorganic plasma phosphorus was used as an indicator for the calcinogenic activity of both plants. This method had been used successfully in earlier investigations (100; 101; 102; 174). Plasma calcium was also determined.

When rabbits were given a single dose of 50 mg of dried leaves of *Solanum malacoxylon*, an average increase in inorganic plasma phosphorus of 2.3 mg/100 ml occurred after 20 hours. This increase was also observed, when the plant material was subjected to heat treatment of 100°C, 110°C, 120°C or 130°C for one hour. In heating tests with higher temperatures, it was noticed that - beginning at 140°C - the average increase of the phosphorus level decreased with the rising temperature. SM which had been heated for one hour at 180°C did not increase the plasma phosphorus level in the rabbits. As to the plasma calcium levels of the rabbits no connection could be detected with the previous application of *Solanum malacoxylon*.

After one hour of continuous heat of 180°C the entire calcinogenic activity of *Solanum malacoxylon* was destroyed. So the active principle of SM, a 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Glycoside, is obviously less thermostable than vitamin D₃. According

to WINDAUS et al. (172) heat of 200°C is required to destroy its biological activity.

In the tests in which SM was subjected to temperatures from 100°C to 150°C for one hour it was noticed that the increase in plasma phosphorus level varied greatly among test animals. This shows a strong individual variation in the rabbits in the reaction to the active principle of *Solanum malacoxylon*. After application of SM subjected to higher temperature, the activity was less, also the increases in plasma phosphorus levels of the rabbits were less divergent.

For the examination of the thermolability of the active principle of *Trisetum flavescens* yellow oat grass was fed to rabbits for one week. The hay was heated for one hour at different temperatures. The temperatures between 160°C and 180°C were tested very thoroughly, because results from earlier tests had indicated a weakening of the effect of the calcinogenic principle of yellow oat grass. A total of 16 feeding tests with yellow oat grass, heated one hour at 160°C, 170°C or 180°C were carried out. I discovered with each test an increase in the plasma calcium level in the rabbits, which did not differ from the maximum increases in the calcium levels that WOLF et al. (175) had found after feeding non heated yellow oat grass to rabbits and which they classified as "unessential". Plasma calcium of rabbits was considered unsuitable for the evaluation of calcinogenic activity of *Trisetum flavescens* as calcium levels of individual animals fluctuated considerably during an experiment, and maximum increases in plasma calcium were too insignificant to show any differences between the activity of *Trisetum flavescens* material heat-treated at 160°C, 170°C and 180°C.

The plasma phosphorus levels of the rabbits showed an increase, too, but the maximum increases for each temperature varied. While the average results of 2.11 mg/100 ml (1.32 mg/100 ml - 2.74 mg/100 ml) of the "160°C-tests" were still very close to the results WOLF et al. (175) had found with non heated yellow oat grass - they saw a maximum increase of 2.99 mg/100 ml

(1.76 mg/100 ml - 3.44 mg/100 ml)- the "170°C-tests" with an increase of 1.75 mg/100 ml (1.22 mg/100 ml - 2.23 mg/100 ml) and above all the "180°C-tests" with 1.31 mg/100 ml (0.82 mg/100 ml - 2.03 mg/100 ml) showed distinctly lower levels. Even if the difference between the phosphorus levels of the "160°C-" "170°C-" and "180°C-tests" bore no statistic significance, higher temperatures tended to result in lower increases in plasma phosphorus than lower temperatures. The calcinogenic activity in yellow oat grass was greatly reduced, if the size of the maximum increase in phosphorus level reflects a varied strength of calcinogenic activity. Nevertheless there was a certain calcinogenic activity even in yellow oat grass heated at 180°C. Tests with yellow oat grass heated higher than 180°C were not done because the rabbits would not have consumed enough of the feed.

The active principle in *Trisetum flavescens* proved more resistant to heat than the active principle in *Solanum malacoxylon*. Thus it seems that they are different substances.

High temperatures were not able to destroy the calcinogenic activity of the yellow oat grass without severely reducing its palatability. Thus heat treatment of yellow oat grass is no suitable means of preventing calcinosis. Therefore other means should be considered - for example dry heat treatment. Because apart from the heat, other factors may be involved.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) ARNOLD, R. M. (1969):
The Interaction of Calcium, Magnesium, Phosphorus, Other Minerals and Vitamin D in the Aetiology of Manchester Wasting Disease
Trop. Anim. Hlth. Prod. 1, 75-84
- 2) ARNOLD, R.M., BRAS, G. (1956):
Observations on the Morbid Anatomy and Histology of Manchester Wasting Disease of Cattle in Jamaica, and Related Conditions in Other Countries of the Americas
Am. J. Vet. Res. 17, 630-639
- 3) ARNOLD, R. M., FINCHAM I. H. (1950):
Cardiovascular and Pulmonary Calcification Apparently Associated with Dietary Imbalance in Jamaica
J. Comp. Path. 60, 51-64
- 4) ASHFORD, C. A. (1930):
The Phosphorus Distribution in Blood and the Calcium and Phosphorus Excretion during Hypervitaminosis D
Biochem. J. 24, 661-668
- 5) BASUDDE, C. D. K., HUMPHREYS, D.J. (1975):
The Effect of the Active Principle of Solanum malacoxylon and the Inhibition of its Action by Actinomycin D
Calcif. Tiss. Res. 18, 133-139
- 6) BASUDDE, C. D. K., HUMPHREYS, D. J. (1976):
The Vitamin D₃ Metabolite-Type Activity of Solanum malacoxylon
Clin. Endocrin. 5, 109s-119s
- 7) BLACKBURN, P.S., BLAXTER, K.L., CASTLE, E.J. (1957):
Vitamin-D₃-Toxicity in Calves
Proc. Nutr. Soc. 16(2), XVI
- 8) BLUNT, J.W., DE LUCA, H.F., SCHNOES, K.H. (1968):
25-Hydroxycholecalciferol. A Biologically Active Metabolite of Vitamin D
Biochemistry 7, 3317-3322
- 9) BOYLE, J.T., GRAY, R.W., DE LUCA, H.F. (1971):
Regulation by Calcium of In-Vivo-Synthesis of 1,25-Dihydroxycholecalciferol and 21,25-Dihydroxycholecalciferol
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 68, 2131-2134
- 10) BRUMBAUGH, P.F., HAUSSLER, M.R. (1974):
1 α ,25-Dihydroxycholecalciferol Receptors in Intestine: I. Association of 1 α ,25-Dihydroxycholecalciferol with Intestinal Mucosa Chromatin
J. Biol. Chem. 249, 1251-1257
- 11) BRUMBAUGH, P.F., HAUSSLER, M.R. (1974):
1 α ,25-Dihydroxycholecalciferol Receptors in Intestine: II. Temperature-dependent Transfer of the Hormone to Chromatin via a Specific Cytosol Receptor
J. Biol. Chem. 249, 1258-1262

- 12) CAMBEROS, H.R., DAVIS, G.K. (1970):
Accion de "Solanum malacoxylon" sobre balance mineral en ovinos
Gac. Vet. 32, 466-477
- 13) CAMBEROS, H.R., DAVIS, G.K., DJAFAR, M.I., SIMPSON, C.F. (1970):
Soft Tissue Calcification in Guinea Pigs Fed the Poisonous Plant *Solanum malacoxylon*
Am. J. Vet. Res. 31, 685-696
- 14) CAPEN, C.C., COLE, C.R., HIBBS, J.W. (1966):
The Pathology of Hypervitaminosis D in Cattle
Path. Vet. 2, 350-378
- 15) CARRILLO, B.J. (1973):
Efecto de la intoxicacion de *Solanum malacoxylon* en la morfologia de la celulas parafooliculares de la tiroides
Rev. Invest. Agropec., INTA, Argent., Serie 4, Pat. Anim. 10, 41-54
- 16) CARRILLO, B.J., TILLEY, J.M., GARCES, N.E., GAGGINO, O.P., RUKSAN, B., WORKER, N.A. (1971):
Intoxicacion experimental de bovinos con "*Solanum malacoxylon*"
Gac. Vet. 33, 468-484
- 17) CARRILLO, B.J., WORKER, N.A. (1967):
~~Enteque~~ seco: arteriosclerosis y calcificacion metastasica de origen toxico en animales a pastoreo
Rev. Invest. Agropec., INTA, Argent., Serie 4, Pat. Anim. 4, 9-30
- 18) COLLIER, W.A. (1927):
Zur Kenntniss einer als "Enteque" bezeichneten Krankheit der Rinder in der Provinz Buenos Aires
Z. Infekt.-Kr., Hgg. Hst. 31, 81-92
- 19) COPLAND, J.W. (1975):
Enzootic Calcinosis of Cattle in Papua New Guinea
Austral. Vet. J. 51, 326
- 20) CORRADINO, R.A. (1974):
Embryonic Chick Intestine in Organ Culture: Interaction of Adenylate Cyclase System and Vitamin D₃-mediated Calcium Absorptive Mechanism
Endocrinology 94, 1607-1614
- 21) CORRADINO, R.A., WASSERMAN, R.H. (1974):
1,25-Dihydroxycholecalciferol-like Activity of *Solanum malacoxylon* Extract on Calcium Transport
Nature 252, 716-718
- 22) DÄMMRICH, K. (1963):
Experimentelle D₃-Hypervitaminose bei Ferkeln
Zbl. Vet. med. X, 322-349
- 23) DÄMMRICH, K., DIRKSEN, G., PLANK, P. (1970):
Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind
3. Skelettveränderungen
Dtsch. tierärztl. Wschr. 77, 343-346

- 24) DÄMMRICH, K., DÖBEREINER, J., DONE, S.H., TOKARNIA, S.H.
(1975):
Skelettveränderungen nach Vergiftung mit Solanum
malacoxylon bei Rindern
Zbl. Vet. Med. A 22, 313-329
- 25) DE LUCA, H.F. (1973):
The Kidney as an Endocrine Organ Involved in Calcium
Homeostasis
Kidney International 4, 80-88
- 26) DE LUCA, H.F. (1974):
Vitamin D - 1973
Am. J. Med. 57, 1-12
- 27) DE LUCA, H.F. (1974):
Vitamin D: the Vitamin and the Hormone
Fed. Proc. 33, 2211-2219
- 28) DE LUCA, H.F. (1976):
Recent Advances in our Understanding of the Vitamin D
Endocrine System
J. Lab. Clin. Med. 87, 7-26
- 29) DE LUCA, H.F., TANAKA, Y., CASTILLO, L., KUMAR, R. (1977):
1,25-Dihydroxyvitamin D₃: Its Further Metabolism and
the Regulation of its Biogenesis
Vitamin D: Biochem., Chem. and Clin. Aspects Related to
Calcium Metabolism; Proceedings of the Third Workshop on
Vitamin D, Asilomar, Pacific Grove, Calif., USA, S.113-122
- 30) DIRKSEN, G., PLANK, P., HÄNICHEN, T., DÄMMRICH, K.,
SPIESS, A. (1971):
Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind
4. Untersuchungen an Schafen mit selektiver Verfütterung
von Klee, Gräsern oder Kräutern
Dtsch. tierärztl. Wschr. 78, 9-12
- 31) DIRKSEN, G., PLANK, P., HÄNICHEN, T., SPIESS, A. (1972):
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind
5. Experimentelle Untersuchungen an Kaninchen mit selekti-
ver Verfütterung von Knautgras (Dactylis glomerata), Gold-
hafer (Trisetum flavescens) und einem Gräsergemisch
Dtsch. tierärztl. Wschr. 79, 77-79
- 32) DIRKSEN, G., PLANK, P., HÄNICHEN, T., SPIESS, A. (1973):
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind
VI. Experimentelle Kalzinose beim Kaninchen durch selekti-
ve Verfütterung von Goldhafer (Trisetum flavescens)
Dtsch. tierärztl. Wschr. 80, 148-152
- 33) DIRKSEN, G., PLANK, P., SIMON, U., HÄNICHEN, T., DANIEL, P.,
SPIESS, A. (1974):
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind
VII. Nachweis der kalzinogenen Wirkung von Goldhafer
(Trisetum flavescens (L.) P. B.) beim Wiederkäuer
Dtsch. tierärztl. Wschr. 81, 1-5

- 34) DIRKSEN, G., PLANK, P., SPIESS, A., HÄNICHEN, T.,
DÄMMRICH, K. (1970):
Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind
1. Klinische Beobachtungen und Untersuchungen
Dtsch. tierärztl. Wschr. 77, 321-338
- 35) DIRKSEN, G., SIMON, U., PLANK, P., HÄNICHEN, T.,
DANIEL, P., SPIESS, A. (1975):
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind
VIII. Untersuchungen über die mögliche Bedeutung des Sonnenlichtes (UV-Strahlen) bei der Entstehung der Kalzinose sowie Nachweis der kalzinogenen Wirkung von getrocknetem Goldhafer (*Trisetum flavescens* (L.) P. B.)
Dtsch. tierärztl. Wschr. 82, 387-390
- 36) DÖBEREINER, J., DÄMMRICH, K. (1974):
Skelettveränderungen bei Rindern nach Vergiftungen mit *Solanum malacoxylon* Sendtner
Verh. Dtsch. Ges. Path. 58, 323-326
- 37) DÖBEREINER, J., DONE, S.H., BELTRAN, L.E. (1975):
Experimental *Solanum malacoxylon* Poisoning in Calves
Brit. Vet. J. 131, 175-185
- 38) DÖBEREINER, J., TOKARNIA, C.H., DA COSTA, J.B.D.,
CAMPOS, J.L.E., DAYRELL, M. DE S. (1971):
"Espichamento", intoxicacao de bovinos por *Solanum malacoxylon*, no pantanal de Mato Grosso
Pesq. Agropec. Bras. Ser. Vet. 6, 91-117
- 39) DONE, S.H., TOKARNIA, C.H., DÄMMRICH, K., DÖBEREINER, J. (1977)
Solanum malacoxylon Poisoning in Pigs
Res. Vet. Sci. 20, 217-219
- 40) ECKELL, O.A., GALLO, G.G., MARTIN, A.A., PORTELA, R.A. (1960)
Observaciones sobre el "Enteque seco" de los bovinos
Rev. Fac. C. Vet. (La Plata) II, 6, 193-211
- 41) EISENSTEIN, R., ZEROULIS, L. (1964):
Vitamin-D-induced Aortic Calcification. An Electron Microscopic Study.
Arch. Path. (Chicago) 77, 27-35
- 42) EMTAGE, J.S., LAWSON, D.E.M., KODICEK, E. (1973):
Vitamin D Induced Synthesis for Calcium-binding Protein
Nature 246, 100-101
- 43) FEUSSNER, H. (1977):
Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Röntgendiagnostik zur Erkennung der enzootischen Kalzinose des Rindes
Vet. Med. Diss. München
- 44) FRASER, D.R., KODICEK, E. (1970):
Unique Biosynthesis by Kidney of a Biologically Active Vitamin D Metabolite
Nature 228, 746-766
- 45) FRASER, D.R., KODICEK, E. (1973):
Regulation of 25-Hydroxycholecalciferol-1-Hydroxylase Activity in Kidney by Parathyroid Hormone
Nature (New Biology) 241, 163-166

- 46) GAGGINO, O.P., DESHPANDE, P.D., TILLEY, J.M. (1967):
Reproduccion experimental de lesiones arterioscleroticas
caracteristicas del entequ seco en ratas
Rev. Invest. Agropec., INTA, Argent., Serie 4,
Pat. Anim. 4, 123-128
- 47) GARABEDIAN, M., HOLICK, M.F., DE LUCA, H.F., BOYLE, J.T.
(1972):
Control of 25-Hydroxycholecalciferol-Metabolism by
Parathyroid Glands
Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 69, 1673-1676
- 48) GILL, B.S., SINGH, M., CHOPRA, A.K. (1975):
Enzootic Calcinosis in Sheep: Clinical Signs and Pathology
Am. J. Vet. Res. 37, No. 5
- 49) GILLMANN, T., GRANT, R.A., HATHORN, M. (1960):
Histochemical and Chemical Studies of Calciferol-induced
Vascular Injuries
Brit. J. Exper. Path. 41, 1-18
- 50) GRAY, R., BOYLE, J., DE LUCA, H.F. (1971):
Vitamin D Metabolism: The Role of Kidney Tissue
Science 172, 1232-1234
- 51) GRAY, R.W., OMDAHL, J.L., GHAZARIAN, J.G., DE LUCA, H.F.
(1972):
25-Hydroxycholecalciferol-1-Hydroxylase. Subcellular
Location and Properties
J. Biol. Chem. 247, 7528- 7532
- 52) HÄNICHEN, T., PLANK, P., DIRKSEN, G. (1970):
Über eine enzootische "Kalzinose" beim Rind
2. Histomorphologische Befunde an den Weichgeweben
Dtsch. tierärztl. Wschr. 77, 338-342
- 53) HAM, A.W., LEWIS, M.D. (1934):
Hypervitaminosis D Rickets: The Action of Vitamin D
Brit. J., Exp. Path. 15, 228-234
- 54) HARMEYER, J., VON GRABE, C., MARTENS, H. (1977):
Effects of Metabolites and Analogues of Vitamin D₃ in
Hereditary Pseudo-Vitamin D Deficiency of Pigs
Vitamin D: Biochem., Chem. and Clin. Aspects Related to
Calcium Metabolism; Proceedings of the Third Workshop on
Vitamin D, Asilomar, Pacific Grove, Calif., USA, S.785-788
- 55) HARRISON, H.E.,⁴⁵ HARRISON, H.C. (1960):
Transfer of ⁴⁵Ca accross Intestinal Wall in Vitro in
Relatiör to Action of Vitamin D and Cortisone
Am. J. Physiol. 199, 265
- 56) HAUSSLER, M.R., BOYCE, D.W., LITTLEDIKE, E.T., RASMUSSEN, H.
(1971):
A Rapidly Acting Metabolite of Vitamin D₃
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68, 177-181
- 57) HAUSSLER, M.R., MYRTLE, J.F., NORMAN, A. (1968):
The Association of a Metabolite of Vitamin D₃ with
Intestinal Mucosa Chromatin in Vivo
J. Biol. Chem. 243, 4055-4064

- 58) HAUSSLER, M.R., NAGODE, L.A., RASMUSSEN, H. (1970):
Induction of Intestinal Brush Border Alkaline Phosphatase
by Vitamin D and Identity with Ca-ATP-ase
Nature 228, 1188-1201
- 59) HAUSSLER, M.R., WASSERMAN, R.H., MC CAIN, T.A., PETERLIK, M.,
BURSAC, K.M., HUGHES, M.R. (1976):
1,25-Dihydroxyvitamin D₃-Glycoside: Identification of a
Calcinogenic Principle of Solanum malacoxylon
Life Sci. 18, 1049-1056
- 60) HEINRITZI, K., KRAGENINGS, G., HÄNICHEN, T. (1977):
Untersuchungen über die kalzinogene Aktivität von silier-
tem Goldhafer (Trisetum flavescens (L.) (P.B.))
Z. Tierphysiol., Tierernährg. u. Futtermittelkde. 39, 139-1
- 61) HENDERSHOT, J.M. (1942):
Rep. Vet. Off. Hawaii
(zit. n. LYND u. M., 1965/ 96)
- 62) VON HERRATH, D., SCHAEFER, K., KRAFT, D., OFFERMANN, G. (1975)
Effect of Solanum malacoxylon on Calcium Metabolism in
Experimental Uremia and in Uremic Patients
Vitamin D and Problems Related to Uremic Bone Disease;
Proceedings of the Second Workshop on Vitamin D, Wiesbaden,
Germany, S.703-708
- 63) HIRSCH, P.F., MUNSON, P.L. (1969):
Thyrocalcitonin
Physiol. Rev. 49, 548-622
- 64) HITCHMAN, A.J.W., HARRISON, J.E. (1972):
Calcium Binding Proteins in the Duodenal Mucosa of the
Chick, Rat, Pig and Human
Can. J. Biochem. 50, 758-765
- 65) HÖPPNER, K., SCHÜTZLER, G. (1974):
Der Einfluß hoher Dosen Vitamin D₃ auf den Natrium-, Kalium
Calcium- und Wassergehalt der Aortenwand von Masthähnchen
Zbl. Vet. Med. A 21, 572-580
- 66) HOLDSWORTH, E.S. (1970):
Effect of Vitamin D on Enzyme Activities in the Mucosal
Cells of the Chick Small Intestine
J. Membrane Biol. 3, 43-53
- 67) HOLICK, M.F., GARABEDIAN, M., DE LUCA, H.F. (1972):
5,6-trans Isomers of Calciferol and 25-Hydroxycholecalciferol
Substitutes for 1,25-Dihydroxycholecalciferol in Anephric
Animals
Biochemistry 11, 2715
- 68) HOLICK, M.F., SCHNOES, H.K., DE LUCA, H.F. (1971):
Identification of 1,25-Dihydroxycholecalciferol, a form
of Vitamin D₃ Metabolically Active in the Intestine
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 68, 803-804
- 69) HUGHES, M.R., BRUMBAUGH, P.F., HAUSSLER, M.R., WERGEDAL, J.E.,
BAYLINK, D.J. (1975):
Regulation of Serum-1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ by Calcium
and Phosphate in the Rat
Science 190, 578-580

- 70) HULDSCHINSKY, K. (1919):
Heilung von Rachitis durch künstliche Höhensonne
Dt. med. Wschr. 45, 712
- 71) HUMPHREYS, D.J. (1973):
Studies on the Active Principle of Solanum malacoxylon
Nature (New Biol.) 246, 155-157
- 72) HUMPHREYS, D.J., BASUDDE, C.D.K., VARGHESE, Z., MOORHEAD, J.F.
(1975):
Plant Induced Calcinosis in Animals
Vitamin D and Problems Related to Uremic Bone Disease;
Proceedings of the Second Workshop on Vitamin D, Wiesbaden,
Germany, S.731-736
- 73) JEAN-BLAIN, M. (1971):
Etat actuel des connaissances sur les metabolismes du
calcium et du phosphore chez les animaux domestique
Cah. Med. Vet. 40, 100-129
- 74) KALLFELZ, F.A., TAYLOR, A.N., WASSERMAN, R.H. (1967):
Vitamin-D-induced Calcium-binding Factor in Rat Intestinal
Mucosa
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 125, 54-58
- 75) KLAPP, E. (1971):
Wiesen und Weiden
Paul-Parey-Verlag, Berlin, 4. Aufl.
- 76) KOBYLINSKI, S. (1971):
Zur Pathogenese der Gewebsverkalkungen bei Vitamin-D-
Intoxikation
Exp. Path. 5, 174-182
- 77) KÖHLER, H., LEIBETSEDER, J., LIBISELLER, R., SKALICKY, M.,
SWOBODA, R. (1974):
Zur Kalzinose des Rindes. I Untersuchungen zur Pathologie
und zum Phosphorstoffwechsel mehrmals an Kalzinose er-
krankter Rinder
Zbl. Vet. Med. A 21, 613-637
- 78) KÖHLER, H., LIBISELLER, R. (1970):
Über das Auftreten der sogenannten "Weidekrankheit" bei
Kühen in Österreich im Zusammenhang mit Dünge und Fütterung
Zbl. Vet. Med. A 17, 289-337
- 79) KOWARSKI, S., SCHACHTER, D. (1975):
Vitamin D Dependent Particulate Calcium Binding Activity
and Intestinal Calcium Transport
Am. J. Physiol. 229, 1198-1204
- 80) KROOK, L., WASSERMAN, R.H., MC ENTÉE, K., BROKKEN, T.,
TEIGLAND, M.B. (1975):
Cestrum diurnum Poisoning in Florida Cattle
Cornell Vet. 65, 557-575
- 81) KROOK, L., WASSERMAN, R.H., SHIVELEY, J.N., TASHJIAN, A.H.,
BROKKEN, T., MORTON, J.F. (1975):
Hypercalcemia and Calcinosis in Florida Horses: Implication
of the Shrub, Cestrum diurnum, as the Causative Agent
Cornell Vet. 65, 26-56

- 82) KUNZ, W. (1977):
Über den Einfluß von Solanum malacoxylon (Sendtner) auf den Kalzium-, Phosphor- und Magnesium-Gehalt im Blutserum beim Rind nach parenteraler und oraler Applikation
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 69-72
- 83) LADIZESKY, M., CABREJAS, M., LABARRERE, C., MAUTALEN, C. (1974):
Solanum malacoxylon and Vitamin D: Comparison of its Antirachitic Activity and its Effect on the Intestinal Absorption of Calcium in the Rat
Endocrin. Acta Panam. 5, 71-79
- 84) LADIZESKY, M., CABREJAS, M., MONTORIANO, R., MAUTALEN, C. (1975):
The Effect of Solanum malacoxylon on the Intestinal and Renal Handling of Calcium and Phosphate in the Rat
Vitamin D and Problems Related to Uremic Bone Disease; Proceedings of the Second Workshop on Vitamin D, Wiesbaden, Germany, S.709-715
- 85) LADIZESKY, M., MAUTALEN, C., CAMBEROS, H.R. (1974):
Solanum malacoxylon: Comparacion de su actividad biologica al administrativo por via oral o parenteral en animales de laboratorio
Medicina (B.A.) 34, 127-132
- 86) LARKINS, R.G., MAC AULEY, S.J., MAC INTYRE, J. (1974):
Feedback Control of Vitamin D Metabolism by a Nuclear Action of 1,25-Dihydroxycholecalciferol on the Kidney
Nature 252, 412-414
- 87) LAWSON, D.E.M., FRASER, D.R., KODICEK, E., MORRIS, H.R., WILLIAMS, D.H. (1971):
Identification of 1,25-Dihydroxycholecalciferol, a New Kidney Hormone Controlling Calcium Metabolism
Nature 230, 228-230
- 88) LAWSON, D.E.M., WILSON, P.W. (1974):
Intranuclear Localization and Receptor Proteins for 1,25-Dihydroxycholecalciferol in Chick Intestine
Biochem. J. 144, 573-583
- 89) LAWSON, D.E.M., WILSON, P.W., KODICEK, E. (1969):
New Vitamin D Metabolite Localized in Intestinal Cell Nuclei
Nature 222, 171-172
- 90) LIBISELLER, R., GLAWISCHNIG, E., KÖHLER, H., SWOBODA, R. (1974):
Zur Kalzinose der Rinder in Österreich. II. Experimentelle Auslösung einer Kalzinose bei Schafen und Kaninchen
Zbl. Vet. Med. A 21, 705-730
- 91) LIBISELLER, R., GLAWISCHNIG, E., KÖHLER, H., SWOBODA, R. (1976):
Zur Kalzinose der Rinder in Österreich. III. Experimentelle Auslösung einer Kalzinose bei Schafen und Kaninchen durch grünen Goldhafer (Trisetum flavescens) aus dem pannonischen Klimagebiet
Zbl. Vet. Med. A 23, 1-30

- 92) LIBISELLER, R., GUNHOLD, P. (1969):
Calcinosen bei Kühen
Naturwissenschaften 56, 39
- 93) LINDT, S. (1968):
D-hypervitaminotische Calcinose bei verschiedenen Tieren
Wien. Tierärztl. Mschr. 55, 148-164
- 94) LUMB, G.A., STANBURY, S.W. (1974):
Parathyroid Function in Human Vitamin D Deficiency and
Vitamin D Deficiency in Primary Hyperparathyroidism
Am. J. Med. 56, 833-839
- 95) LYND, F.T. (1969):
Disturbance of Mineral Metabolism in Naalehu Disease of
Cattle
Univers. Texas Med. School S. Antonio, Texas
- 96) LYND, F.T., WILLERS, E.H., WEIGHT, L.A., GEBAUER, P.W. (1965):
Bovine Arteriosclerosis in Hawaii
Am. J. Vet. Res. 26, 1344-1349
- 97) MC COLLUM, E.V., SIMMONDS, N., BECKER, J.E., SHIPLEY, P.G.
(1922):
Studies on Experimental Rickets, an Experimental Demon-
stration of Existence of a Vitamin which Promotes Cal-
cium Deposition
J. Biol. Chem. 53, 293-312
- 98) MC HARDY, G.J.R., PARSONS, D.S. (1956):
The Absorption of Inorganic Phosphate from the Small
Intestine of the Rat
Quart. J. Exp. Physiol. 41, 398-409
- 99) MASSELIN, J.N., ABADIE, G.J., MONESIGLIO, J.C., ROSSI, F.M.
(1969):
Accion del extracto etereo del Duraznillo blanco
(Solanum malacoxylon)
Rev. Invest. Agropec., INTA, Argent., Serie 4,
Pat. Anim. 6, 1-19
- 100) MAUTALEN, C.A. (1971):
Mecanismo de accion del Solanum malacoxylon sobre el
metabolismo mineral en el conejo
Rev. Argent. Endocr. Metab. 17, 1-18
- 101) MAUTALEN, C.A. (1972):
Mechanism of Action of Solanum malacoxylon upon Calcium
and Phosphate Metabolism in the Rabbit
Endocr nology 90, 563-567
- 102) MAUTALEN, C.A., ROSSI, F.M., DALLORSO, M.E., DASKAL, H.,
LEIVA, A. (1969):
Efecto del Solanum malacoxylon sobre el metabolismo
fosfo-calcico en el conejo
14 Reunion de Investigaciones clinicas, Bariloche, Argentina
- 103) MELANCON, M.J., DE LUCA, H.F. (1970):
Vitamin D Stimulation of Calcium-dependent Adenosine
Triphosphatase in Chick Intestinal Brush Borders
Biochemistry 2, 1658-1664

- 104) MELLANBY, E. (1919):
Experimental Investigation on Rickets
Lancet 1, 407
- 105) MIDGETT, R.J., SPIELVOGEL, A.M., COBURN, J.W., NORMAN, A.W. (1973):
Studies on Calciferol Metabolism. IV. The Renal Production of the Biologically Active Form of Vitamin D, 1,25-Dihydroxycholecalciferol; Species, Tissue and Subcellular Distribution
J. Clin. Endocrin. Metab. 36, 1153-1161
- 106) MYRTLE, J.F., NORMAN, A.W. (1971):
Vitamin D: A Cholecalciferol Metabolite Highly Active in Promoting Intestinal Calcium Transport
Science 171, 79-82
- 107) NAPOLI, J.L., REEVE, L.E., EISMAN, J.A., SCHNOES, K.H., DE LUCA, H.F. (1977):
1,25-Dihydroxyvitamin-D₂ from *Solanum glaucophyllum*
Vitamin D: Biochem., Chem. and Clin. Aspects Related to Calcium Metabolism; Proceedings of the Third Workshop on Vitamin D, Asilomar, Pacific Grove, Calif., USA, S.29-32
- 108) NEUMANN, F., NOBEL, T.A., KLOPPER, U. (1973):
Calcinosis in Goats
J. Comp. Path. 83, 343-350
- 109) NICOLAYSEN, R. (1937):
Studies upon the Mode of Action of Vitamin D. III. The Influence of Vitamin D on Absorption of Calcium and Phosphorus
Biochem. J. 31, 122-129
- 110) NICOLAYSEN, R., EEG-LARSEN, N. (1953):
The Biochemistry and Physiology of Vitamin D
Vitamins and Hormones 11, 29-60
- 111) NORMAN, A.W. (1974):
The Hormone-like Action of 1,25-(OH)₂-Cholecalciferol (A Metabolite of the Fat-soluble Vitamin D) in the Intestine
Vitamins and Hormones 32, 325-384
- 112) NORMAN, A.W., MIRCHEFF, A.K., ADAMS, T.H., SPIELVOGEL, A. (1970):
Studies on the Mechanism of Action of Calciferol. III. Vitamin-D-Mediated Increase of Intestinal Brush Border Alkaline Phosphatase Activity
Biochim. Biophys. Acta 215, 348-359
- 113) O'DONNELL, J.M., SMITH, M.W. (1973):
Vitamin D-like Action of *Solanum malacoxylon* on Calcium Transport by Rat Intestine
Nature 244, 357-358
- 114) OLDHAM, S.B., ARNAUD, C.D., JOWSEY, J. (1973):
Influence of Vitamin D on Canine Parathyroid Glands
Clin. Res. 21, 254
- 115) OMDAHL, J.L., DE LUCA, H.F. (1972):
Rachitogenic Activity of Dietary Strontium. I. Inhibition of Intestinal Calcium Absorption and 1,25-Dihydroxycholecalciferol Synthesis
J. Biol. Chem. 247, 5520-5526

- 116) ONDERSCHEKA, K., LABER, B., SZEKELY, H., BINDER, K. (1967):
Chronischer Magnesiummangel bei Kühen
Wiener tierärztl. Mschr. 54, 219-235
- 117) PARDI, M.C., DOS SANTOS, A. (1947):
Ossificacao pulmonar e calcificacao vascular em
bovinos do pantanal mato grossense
Veterinaria, Rio de Janeiro, 1, 3-7
- 118) PECHET, M.M., HESSE, R.H. (1974):
Metabolic and Clinical Effects of Pure Crystalline
1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃
Am. J. Med. 57, 13-20
- 119) PETERLIK, M., BURSAC, K., HAUSSLER, M.R., HUGHES, M.R.,
WASSERMAN, R.H. (1976):
Further Evidence for the 1,25-Dihydroxyvitamin D-like
Activity of Solanum malacoxylon
Biochem. Biophys. Res. Comm. 70, 797-804
- 120) PETERLIK, M., REGAL, D.-S., KÖHLER, H. (1977):
Eine 1,25-Dihydroxyvitamin-D-artige Substanz als Ursache der
kalzinogenen Wirkung des Goldhafers (Trisetum flavescens)
Dtsch. tierärztl. Wschr. 84, 253-255
- 121) PETERLIK, M., WASSERMAN, R.H. (1975):
1,25-Dihydroxycholecalciferol-like Activity in Solanum
malacoxylon: Purification and Partial Characterization
FEBS Letters 56, 16-19
- 122) PIAZOLO, P., SCHLEYER, M., FRANZ, H.E. (1971):
Isolation and Purification of a Calcium Binding Protein
from Human Tissues
Hoppe-Schleyer's Z. Physiol. Chem. 352, 1480-1486
- 123) PIKE, J.W., TOVERUD, S., BOASS, A., MC CAIN, T.,
HAUSSLER, M.R. (1977):
Circulating 1 α ,25(OH)₂D during Physiological States of
Calcium Stress
Vitamin D: Biochem., Chem. and Clin. Aspects Related to
Calcium Metabolism; Proceedings of the Third Workshop on
Vitamin D, Asilomar, Pacific Grove, Calif., USA, S.187-189
- 124) PLANK, P., HÄNICHEN, T., DIRKSEN, G. (1976):
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind
IX. Untersuchungen über den Einfluß der Düngung auf die
pathogene Wirkung von "Kalzinoseweiden"
Dtsch. tierärztl. Wschr. 83, 159-161
- 125) PONCHON, G., KENNAN, A.L., DE LUCA, H.F. (1969):
"Activation" of Vitamin D by the Liver
J. Clin. Invest. 48, 2032-2037
- 126) RAISZ, L.G., TRUMMEL, C.L., HOLICK, M.F., DE LUCA, H.F. (1972):
1,25-Dihydroxycholecalciferol: A Potent Stimulator of
Bone Resorption in Tissue Culture
Science 175, 768-769

- 127) REMAGEN, W., OEFF, K. (1965):
 Biochemisches und morphologisches Verhalten der
 Ratte bei Dihydrotachysterinbehandlung
 Zschr. ges. exper. Med. 139, 574-588
- 128) ROSS, E., FURUMOTO, H.H. (1970):
 The Effect of Dried Fruits of *Solanum sodomaeum* on Japa-
 nese Quail and S.C. White Leghorn Cockerel Chicks
 Poultry Sci. 49, No. 1
- 129) ROSS, E., SIMPSON, C.F., ROWLAND, L.O. Jr., HARMS, R.H. (1971):
 Toxicity of *Solanum sodomaeum* and *Solanum malacoxylon*
 to Chicks
 Poultry Sci. 50, 870-873
- 130) ROSSI, F.M., DALLORSO, M.E., DASKAL, H.E., GAGGINO, O.P.,
 LEIVA, A. (1969):
 Reproduccion experimental de Entequese seco en conejo
 I. Lesiones cardiovasculares
 Gac. Vet. Bs.As. 31, 415-426
- 131) ROSSI, F.M., DALLORSO, M.E., LEIVA, A., GAGGINO, O.P. (1969):
 Calcificacion de tejidos blandos en conejos
 producida por *Solanum malacoxylon*
 1º Congreso Mundial de Patologia, Buenos Aires, 1969
- 132) RUKSAN, B., CARRILLO, B. (1976):
 Efecto en ovinos del *Solanum malacoxylon* incubado
 con liquido de rumen
 Medicina (Buenos Aires) 36, 318-322
- 133) SANSOM, B.F., VAGG, M.J., DÖBEREINER, J. (1971):
 The Effects of *Solanum malacoxylon* on Calcium
 Metabolism in Cattle
 Res. Vet. Sci. 12, 604-605
- 134) SCHIFF, A. (1930):
 Die durch Vigantol erzeugbaren Gefäßwandveränderungen
 und ihre Rückbildungsfähigkeit im Tierversuch
 Virchows Arch. path. Anat. 278, 62-83
- 135) SCHMIDTMANN, M. (1929):
 Ist der Vigantolgefäßschaden rückbildungsfähig?
 Klin. Wschr. 8 (zit. n. WOLF, 1976/ 174)
- 136) SCHNEIDER, L.E., WASSERMAN, R.H., SCHEDL, H.P. (1975):
 Depressed Duodenal Calcium Absorption in the
 Diabetic Rat: Restoration by *Solanum malacoxylon*
 Endocrinology 97, 649-653
- 137) SIMESEN, M.G. (1977):
 Enzootisk calcinose og andre planteinducerede calcinoser
 Nord. Vet.-Med. 29, 76-89
- 138) SIMON, U., DANIEL, P., DIRKSEN, G. (1975):
 Der Goldhafer (*Trisetum flavescens* (L.) P. B.),
 hochwertiges Futtergras oder Schadpflanze?
 Ergebnisse landwirtschaftlicher Forschung an der Justus-
 Liebig-Universität, XIII, 104-113 (Gießen, 1975)

- 139) SPANOS, E., PIKE, J.W., HAUSSLER, M.R., COLSTON, K.W., EVANS, J.M.A., GOLDNER, A.M., MC CAIN, T.A., MAC INTYRE J. (1976):
Circulating 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D in the Chicken: Enhancement by Injection of Prolactin and during Egg Laying
Life Science 19 (II), 1751-1756
- 140) SPIESS, A. (1974):
Weitere Beobachtungen über Wesen und Verlauf der
enzootischen Kalzinose des Rindes
Vet. Med. Diss. Gießen
- 141) TANAKA, Y., DE LUCA, H.F. (1973):
The Control of 25-Hydroxyvitamin D Metabolism
by Inorganic Phosphorus
Arch. Biochem. Biophys. 154, 566-574
- 142) TANAKA, Y., FRANK, H., DE LUCA, H.F. (1973):
Intestinal Calcium Transport: Stimulation of Low Phosphorus
Diets
Sci. 181, 564-566
- 143) TANAKA, Y., DE LUCA, H.F. (1974):
Role of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ in Maintaining Serum-
Phosphorus and Curing Rickets
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 71, 1040-1044
- 144) TAYLOR, A.N., WASSERMAN, R.H. (1972):
Vitamin D-induced Calcium Binding Protein: Comparative
Aspects in Kidney and Intestine
Am. J. Physiol. 223, 110-114
- 145) TAYLOR, A.N., WASSERMAN, R.H., JOWSEY, J. (1968):
A Vitamin D-dependent Calcium Binding Protein in
Canine Intestinal Mucosa
Fed. Proc. 27, 675
- 146) TOKARNIA, C.H., DÖBEREINER, J. (1974):
"Espichamento", intoxicacao de bovinos por Solanum malacoxylon, no pantanal de Mato Grosso. II. Estudos complementares
Pesq. Agropec. Bras. Ser. Vet. 9, 53-62
- 147) TSAI, H.C., MIDGETT, R.J., NORMAN, A.W. (1973):
Studies on Calciferol Metabolism. VII. The Effects of Actinomycin D and Cycloheximide on the Metabolism, Tissue and Subcellular Localisation, and Action of Vitamin D₃
Arch. Biochem. Biophys. 157, 339
- 148) TUCHWEBER, B., GABBIANI, G. (1967):
Effect of Sodium Pyrophosphate on Experimental Soft-Tissue Calcification and Hypercalcemia
Canad. J. Physiol. Pharmacol. 45, 957-964
- 149) TUSTIN, R.C., PIENAAR, C.H., SCHMIDT, J.M., FAUL, A., VAN DER WALT, K., BOYAZOGLU, P.A., DE BOOM, H.P.A. (1973):
Enzootic Calcinoses of Sheep in South Africa
J. S. Afr. Vet. Ass. 44, 363-395
- 150) URIBE, A., HOLICK, M.F., JORGENSEN, N.A., DE LUCA, H.F. (1974):
Action of Solanum malacoxylon on Calcium Metabolism in the Rat
Biochem. Biophys. Res. Comm. 58, 257-262

- 151) VARELA, B., COLLAZO, J.A., MOREAN, J., RUBINO, P. (1930):
Experimentelle Arteriosklerose im Verlaufe der
Hypervitaminose D bei Kaninchen und Ratten
Virchows Arch. path. Anat. 274, 270-280
- 152) WALLING, M.W. (1977):
Effects of $1\alpha,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ on Active Intestinal Inorganic
Phosphate Absorption
Vitamin D: Biochem., Chem. and Clin. Aspects Related to
Calcium Metabolism; Proceedings of the Third Workshop on
Vitamin D, Asilomar, Pacific Grove, Calif., USA, S.321-330
- 153) WALLING, M.W., KIMBERG, D.V. (1975):
Effects of $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D_3 and Solanum glauco-
phyllum on Intestinal Calcium and Phosphate Transport
and on Plasma Ca, Mg and P-Levels in the Rat
Endocrinology 97, 1567-1576
- 154) WALLING, M.W., KIMBERG, D.V. (1975):
Calcium Absorption by the Intestine. Stimulation in Vitamin
D-deficient Nephrectomized Rats by Solanum glaucophyllum
Gastroenterology, 69, 200-205
- 155) WALLING, M.W., KIMBERG, D.V., LLOYD, W., WELLS, H., PROSCAL,
D.A., NORMAN, A.W. (1975):
Solanum glaucophyllum (malacoxylon): An Apparent Source of
a Water-soluble, Functional and Structural Analogue of
 $1\text{-}\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D_3
Vitamin D and Problems Related to Uremic Bone Disease;
Proceedings of the Second Workshop on Vitamin D, Wiesbaden,
Germany, S.717-723
- 156) WARKANY, J. (1928):
Die phosphatämische Kurve des normalen und des rachiti-
schen Organismus
Z. Kinderheilk. 46, 1-12
- 157) WARKANY, J. (1930):
Die phosphatämische Kurve des normalen und des rachiti-
schen Organismus. V.Mitteilung
Z. Kinderheilk. 49, 259-270
- 158) WASE, A.W. (1972):
Effect of Solanum malacoxylon on Serum Calcium and
Phosphate in Laboratory Animals
Fed. Proc. 31, 708
- 159) WASSERMAN, R.H. (1974):
Calcium Absorption and Calcium Binding Protein Synthesis:
Solanum malacoxylon Reverses Strontium Inhibition
Science 183, 1092-1094
- 160) WASSERMAN, R.H. (1975):
Active Vitamin D-like Substances in Solanum malacoxylon
and Other Calcinogenic Plants
Nutr. Rev. 33, 1-5
- 161) WASSERMAN, R.H., CORRADINO, R.A., KROOK, L.P. (1975):
Cestrum diurnum: A Domestic Plant with $1,25$ -Dihydroxychole-
calciferol-like Activity
Biochem. Biophys. Res. Comm. 62, 85-91

- 162) WASSERMAN, R.H., HENION, J.D., HAUSSLER, M.R., MC CAIN, T. (1976):
Calcinogenic Factor in *Solanum malacoxylon*: Evidence that it is 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃-Glycoside
Science 194, 853-855
- 163) WASSERMAN, R.H., KROOK, L., DIRKSEN, G. (1977):
Evidence for Anti-rachitic Activity in the Calcinogenic Plant, *Trisetum flavescens*
Cornell Vet. 67, 333-350
- 164) WASSERMAN, R.H., TAYLOR, A.N. (1963):
Vitamin D₃ Inhibition of Radio-Calcium Binding by Chick Intestinal Homogenates
Nature 198, 30
- 165) WASSERMAN, R.H., TAYLOR, A.N. (1966):
Vitamin D₃-induced Calcium Binding Protein in Chick Intestinal Mucosa
Science 152, 791-793
- 166) WASSERMAN, R.H., TAYLOR, A.N. (1970):
Evidence for a Vitamin D₃-induced Calcium Binding Protein in New World Primates
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 136, 25-28
- 167) WASSERMAN, R.H., TAYLOR, A.N. (1973):
Intestinal Absorption of Phosphate in the Chick: Effect of Vitamin D₃ and Other Parameters
J. Nutr. 103, 586-599
- 168) WASSERMAN, R.H., TAYLOR, A.N. (1974):
Die physiologische Bedeutung des Vitamin-D-abhängigen calciumbindenden Proteins
Triangel 12, 119-127
- 169) WEBER, E. (1972):
Grundriß der biologischen Statistik
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, 7. Aufl.
- 170) WILLERS, E.H., LYND, F.T., WEIGHT, L.A., MIYAHARA, A.Y. (1965):
Experimental Studies of Bovine Arteriosclerosis in Hawaii
Am. J. Vet. Res. 26, 1350-1355
- 171) WINDAUS, A., BUSSE, P., WEIDLICH, G. (1931):
Nachtrag zu der Arbeit "Vergebliche Versuche zur Abtrennung des antirachitischen vom toxischen Faktor in Bestrahlungsprodukten des Ergosterins"
Z. Physiol. Ch. 202, 246-248
- 172) WINDAUS, A., DEPPE, M., ROOSEN-RUNGE, C. (1938):
Über die Pyro-vitamine D₂ und ihre Dehydro-derivate.
Liebigs Ann. Chem. 537, 1-10
- 173) WINDAUS, A., LINSERT, O., LÜTTRINGHAUS, A., WEIDLICH, G. (1932):
Über das krystallisierte Vitamin D₂.
Liebigs Ann. Chem. 492, 226-241
- 174) WOLF, M. (1976):
Untersuchungen über die kalzinogene Aktivität von *Trisetum flavescens* ((L.) P. B.) am Kaninchen
Vet. Med. Diss. München

- 175) WOLF, M., DIRKSEN, G. (1976):
Über eine enzootische Kalzinose beim Rind
X. Mitteilung: Untersuchungen über den Einfluß von
Trisetum flavescens (L.) P. B.) auf den Kalzium-
und Phosphorspiegel im Blutserum des Kaninchens
Dtsch. tierärztl. Wschr. 83, 398-401
- 176) WONG, R.G., MYRTLE, J.F., TSAI, H.C., NORMAN, A.W. (1972):
Studies on Calciferol Metabolism. V. The Occurrence and
Biological Activity of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ in Bone.
J. Biol. Chem. 247, 5728- 5735
- 177) WORKER, N.A., CARRILLO, B.J. (1967):
"Enteque seco", Calcification and Wasting in
Grazing Cattle in the Argentine
Nature 215, 72-74
- 178) ZUCKER, H., KREUTZBERG, O., RAMBECK, W.A. (1977):
Vitamin D-like Action of a Steroid from *Trisetum flavescens*
Vitamin D: Biochem., Chem. and Clin. Aspects Related to
Calcium Metabolism; Proceedings of the Third Workshop on
Vitamin D, Asilomar, Pacific Grove, Calif., USA, S.85-87

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. G. Dirksen für die Überlassung des Themas, die Bereitstellung der Versuchstiere und für seine Ratschläge und wertvolle Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Weiter danke ich ganz besonders Herrn Dr. Manfred Wolf für seine nimmermüde Hilfe bei der Einarbeitung in das Thema und für seine Bereitschaft zur kritischen Diskussion.

Herrn Prof. Dr. K. Osterkorn vom Institut für Tierzucht und Tierhygiene der Universität München danke ich für die Beratung in statistischen Fragen.

Herrn G. Kragenings vom Lehr- und Versuchsgut Oberschleißheim des Fachbereichs Tiermedizin danke ich für die Überlassung des Goldhafers.

L e b e n s l a u f

Am 1. Januar 1951 wurde ich, Wolfgang Ullrich, als Sohn des Universitätsprofessors Dr. med. vet. Konrad Ullrich und seiner Ehefrau Hilde, geb. Möller, in Berlin geboren. Im Mai 1955 zog unsere Familie nach München. Hier wurde ich im September 1957 in der Volksschule am Lehrer-Götz-Weg eingeschult. Ab September 1961 besuchte ich das Wilhelmsgymnasium in München, wo ich 1970 das Abitur ablegte. Im Wintersemester 1970/71 begann ich in München mit dem Studium der Veterinärmedizin. Zum Wintersemester 1973/74 wechselte ich an die Tierärztliche Hochschule Hannover, wo ich im November 1975 mein Studium abschloß. Meine Approbation als Tierarzt erhielt ich am 20. März 1976. Am 9. April 1976 heiratete ich die Volksschullehrerin Brigitte Bayer. Von September 1976 bis September 1977 war ich als Verwalter der Dienstgeschäfte eines wissenschaftlichen Assistenten an der Medizinischen Tierklinik II der Ludwig-Maximilians-Universität in München tätig, wo ich mit der Anfertigung meiner Dissertation begann. Seit September 1977 bin ich als Fleischbeschauerarzt am Städtischen Schlachthof in München tätig.

